Aus der Bayerischen Veterinärpolizeilichen Anstalt in Schleißheim.
Damaliger Vorstand: Direktor Dr. Wilhelm Ernst.

Wirkung von Chlorkohlenstoffen
auf die
Peroxydasen, Katalasen, Amylasen, Aldehydreduktasen und auf biologische Reaktionen von Serum.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Würde eines
doctor medicinae veterinariae
der veterinärmedizinischen Fakultät
der Ludwig Maximilians-Universität
München

vorgelegt von
Tierarzt, Tierzuchtassessor Veterinär d. R. a. D.
Heinrich Eckmann
aus Schwarzach bei Bogen in Niederbayern.

Landshut 1928.

Aus der Bayerischen Veterinärpolizeilichen Anstalt in Schleißheim.
Damaliger Vorstand: Direktor Dr. Wilhelm Ernst.

Wirkung von Chlorkohlenstoffen

auf die

Peroxydasen, Katalasen, Amylasen, Aldehydreduktasen und auf biologische Reaktionen von Serum.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Würde eines

doctor medicinae veterinariae

der veterinärmedizinischen Fakultät

der Ludwig Maximilians-Universität

München

vorgelegt von

Tierarzt, Tierzuchtassessor Veterinär d. R. a. D.

Heinrich Eckmann

aus Schwarzach bei Bogen in Niederbayern.

Landshut 1928.

Gedruckt mit Genehmigung der tierärztlichen
Fakultät der Universität in München.
Referent: Prof. Dr. W. Ernst.

Meiner lieben Gattin!

Wirkung von Chlorkohlenstoffen auf die Peroxydasen, Katalasen, Amylasen, Aldehydreduktasen und auf biologische Reaktionen von Serum.

1.

Chlorkohlenstoffe und ihre Wirkung als Leberegelmittel.

Aus der Reihe der Mittel, die gegen die Leberegelkrankheit der Schafe und Rinder versucht worden sind, schälen sich seit den Arbeiten von Mareck in den Jahren 1916 und 1917 und seitdem im Jahre 1925 durch die chemische Fabrik Aubing das Serapis, Sb. 444 in die Therapie der genannten Krankheiten eingeführt wurde, zwei große Gruppen chemischer Körper heraus, die als die best wirksamen Arzneimittel das Feld behaupten; das ist das Distol, in neuerer Zeit auch das Filinol, weitgehend gereinigte Filixstoffe und bestimmte Chlorkohlenstoffe.

Während die gereinigten Filixstoffe in den angewandten Dosen verhältnismäßig ungiftig sind, so daß sie als praktisch ungiftig auch beim Rind gelten können, zeigte sich bei dem tetrachlorkohlenstoffhaltigen Mittel Sb. 444 eine solche Ungefährlichkeit nicht; insbesondere waren es Rinder, die nach der Eingabe des Arzneimittels zugrunde gingen, was zur Folge hatte, daß das Sb. 444 für Rinder nicht mehr ausgegeben wurde. Bei Schafen sind die Verlustzahlen wesentlich geringer, noch nicht eines auf Tausend der behandelten Schafe, sodaß Sb. 444 auch heute noch in Deutschland bei Schafen große Verwendung findet. Nach Nöller, Gluschke und Schmid besteht Sb. 444 aus 81—82% Tetrachlormethan, das als emulsionsförderndes und die Resorption verminderndes Mittel technisches Koniferenharz enthielt. Nach den Versuchen von Nöller sowie von Dürschinger zeigte Tetrachlerkohlenstoff gleich sichere Leberegel abtreibende Wirkung wie Sb. 444. Nach Dürschinger war diese Wirkung bis zur Viertelbosis des Serapis ausgezeichnet; selbst eine Achteldosis trieb noch die meisten Leberegel ab.

Von solch kleinen Dosen ging schließlich auch Montgomerie, der gegen Leberegel der Schafe pro Schaf 1 ccm Tetrachlorkohlenstoff in Hartgelatinekapseln gibt, aus. Daß das Mittel auch in anderen Dosen unter Umständen schädlich wirkt und daß es insbesondere für Rinder auch hier für bestimmte Individuen gefährlich ist, muß in einer gewissen Disposition der Tiere gegen Tetrachlorkohlenstoff begründet sein. Es sterben gewöhnlich nicht die durch die Leberegelkrankheit besonders heruntergekommenen Tiere an der Tetrachlorkohlenstoffvergiftung, sondern im Gegenteil gerade die bestgenährten und solche Tiere, die als beste Milchnerinnen hervorstechen.

Rinder bekommen nach Ernst kürzere oder einige Zeit nach der Eingabe der vorgeschriebenen Dosis nicht nur die auch in den Versuchen der Anstalt mit besonders hohen Dosen beobachteten Narkosen und Reizungserscheinungen, sondern solche schwerster Art: Unruheerscheinungen, Schlagen, Stoßen, Kettenreißen, Springen in die Barren, Reißen im Absperrgitter,

Muskelzittern, graubraunen Nasenausfluß, Schäumen aus Nase und Maul, andauernde Brechbewegungen, Zwangsbewegungen. Der Zustand — soweit nicht ohne solche Erscheinungen sich gleich die Narkosewirkung vermehrt äußerte — ging in einen narkotisierten über mit Benommenheit des Sensoriums, ängstlichem Blick, Schwanken, gesenktem Kopf, Apathie, matten Augen, hängenden Ohren, Anlehnen an Barren und Wände. Die Tiere legten sich, konnten sich nicht mihr erheben, waren mäßig aufgetrieben, Blasenlähmung trat ein, in einem Fall soll der abgesetzte Harn gashaltig gewesen sein. Atmung und Puls waren vermehrt. Die Atemluft und die Ausdünstung der Tiere zeigten den charakteristischen Geruch des Tetrachlorkohlenstoffes. Die Temperatur der Tiere blieb subnormal bis normal; erst am 3. und 4. Tag trat Fieber von 40 und 41° auf.

Drei Hühner und eine Katze, die von dem Blute bezw. Fleisch der verendeten Tiere naschten, sind ebenfalls an akutem Vergiftungsfall verendet. Die Zerlegungen der verendeten oder notgeschlachteten Tiere zeigten ein einheitliches Bild: Gostroenteritische Erscheinungen, Blutungen und blutige Schleimhautentzündungen im Labmagen, ebenso punktförmige oder streifige oder diffuse Blutungen im Dünndarm, mehr oder weniger hochgradige Entzündung der Dünndarmschleimhaut in verschiedener Ausdehnung und bis zum örtlichen Schleimhautzerfall. Blinddarm, Grimm. und Mastdarm wiesen ebenfalls Blutungen verschiedenster Ausdehnung auf, sowie Schleimhautentzündungen von einfacher Schwellung über geschwürigen Zerfall zur hämorrhagischen Nekrose. Punktförmige oder flächenhafte Blutungen sind vereinzelt oder zahlreich im Netz, auf den serösen Häuten des Bauch- und Brustfelles, ebenso auf dem Lungenfell. Epikard und Endokard zeigen schwere und oft ausgedehnte subseröse Blutungen. Ebenso sind solche vereinzelt im Myokard. Die Lungen zeigen Stauung und nicht selten hochgradiges Oedem. Die Blutgefäße der Leber, besonders die Kapillaren, sind strotzend mit Blut gefüllt. Stauungsleber, Blutungen in Leber und Nieren, Blutungen und sulzige Verquellungen in der Körpermuskulatur geben den Befunden Ähnlichkeit mit denen des malignen Oedems und des Milzbrandes, besonders wenn, wie nicht selten, Milzschwellungen verschiedenen Grades dazukommen. Besonders typisch ist die Leber verändert. Zu den Erscheinungen der Stauungsleber treten solche schwerster Degeneration. Trübe Schwellung und fettige Infiltration verändern die Leberazini zu einer gelben Masse. Im Verein mit den strotzend gefüllten Gefäßchen und Kapillarblutungen entsteht das typische Bild der Muskatleber.

Die Schleimhaut der Gallenblase ist hochgradig geschwollen, von Blutungen durchsetzt und mit gelbrotem Schleim überzogen. Die Galle selbst ist hell, weißlich gelb durchscheinend, dünnflüßig bis schleimig oder rötlich bis blutig. In einem Fall war Lähmung der Gallenblase zu beobachten; diese soll 12 Liter Galle enthalten haben.

Fettige Degeneration und parenchymatöse Entzündungen treten auch in der Niere und im Herzfleisch neben den erwähnten Blutungen auf.

Das Bindegewebe kann ebenso wie das Fett Blutungen oder ikterische Färbung zeigen, die Lymphdrüsen Durchsaftung und Anhäufung von Blut und Blutfarbstoff.

Im Blute sieht man zahlreiche Monozyten und Monozytenhaufen, an den Blutgefäßen Endothelnekrose und Verfettung. Lipämie und Lipurie ist nachweisbar.

Nun haben sich aber auch schon Todesfälle nach Behandlung von Schafen ereignet. So meldet ein an das pathologische und chemische Institut der Tierärztlichen Hochschule in Berlin gerichteter Brief des Herrn Rittmeister von Stefaniz vom Zuchtgut Osig des „Deutschen Schäferverbandes", daß dort dreizehn schwer kranke Schafe mit Sb. 444 behandelt wurden mit dem Erfolge, daß acht innerhalb kurzer Zeit verendeten.

Ein Bericht von Tierarzt Löffler-Straßburg (Uckermark) spricht von 23 Todesfällen im Anschluß an die Behandlung von 178 je 35—40 kg schweren Jährlingsschafen der Arnimschen Gutsverwaltung Hausfeld bei Straßburg mit Sb. 444. Der Ernährungszustand der Tiere war gut; die eingegangenen Tiere waren die bestgenährten. Der Tod trat unter starkem, übelriechendem Durchfalle, unter Mattigkeit und starkem Durstgefühl ein. Bei der Zerlegung wurde eine schwere, hämorrhagische Darmentzündung festgestellt. Eine Überdosierung lag nicht vor, da 244 ccm mehr Serapis nach der Dosierungsvorschrift hätten verwendet werden dürfen.

Ende des Jahres 1925, in dem sich die meisten derartigen Schadenfälle ereigneten, wurde an der veterinärpolizeilichen Anstalt auch versucht durch Experimente an Kleintieren die Ursache der Sojabohnenvergiftung zu klären, die beim Rind als „Dürener Rinderseuche" in Deutschland bekannt geworden ist. Diese Bohnen wurden bekanntlich mit Trichloräthylen entfettet; Trichloräthylen galt als relativ ungiftig; es wird mit Dampf aus den Bohnen ausgetrieben; dabei konnte immerhin in dem entfetteten Gut ein Rest von Trichloräthylen zurückbleiben, da etwa 20 % davon im Laufe der Entfettung nacherseßt werden muß. Trichloräthylen wird aus Tetrachloräthan hergestellt. Die Versuche der Anstalt mit Trichloräthylen und Tetrachloräthan schufen bei vergifteten Kleintieren hochgradige Stauungsleber, trübe Schwellung der Leberzellen, fettige Degeneration bezw. Infiltration, Zertrümmerung der Struktur der Leberläppchen von der Zentralvene aus, Lipämie und Lipurie und schufen so ein Bild, das histologisch größte Ähnlichkeit zeigt mit den Gewebsveränderungen, die auf Tetrachlormethan bezw. Sb. 444 bei Rindern auftraten. Dauerte die Verfütterung kleinster Mengen von Tetrachlorkohlenstoff länger, wurde die Vergiftung chronisch, so näherte sich das Vergiftungsbild dem der Dürener Rinderseuche. Die Vergiftung machte sich in abgegrenzten Leberbezirken kenntlich, es entstanden nekrotische Infarkte. Auch bei der Dürener Rinderseuche zeigten sich fette Tiere oder gute Milchnerinnen stärker gefährdet als anzumästende, junge Tiere oder Tiere gewöhnlicher Kondition.

Die Entstehung der Chlorkohlenstoffvergiftung kennt man noch nicht genau; man weiß zwar aus der Narkosepraxis, daß die Ausscheidung des Chloroforms bei fetten Tieren verlangsamt wird, weil eben das Fettgewebe ähnlich wie das Nervengewebe große Mengen von Chloroform aufzunehmen imstande ist. Für das Fettgewebe ist eine höhere Affinität zu den Chlorkohlenstoffen gegeben, wie für anderes Körpergewebe, ähnlich wie das Nervengewebe eine höhere Affinität besitzt. Fortgesetzte kleine Chloroformgaben erzeugen Herzmuskelverfettung. Man glaubt, daß die

Lipoide der Zellen den Chlorkohlenstoffen das Eindringen in die Zellen erleichtern und dann wird wohl ein Abbau der Chlorkohlenstoffe beginnen, der unter Umstände zum Säuretod oder zum Chlortod der Zelle führt, ähnlich wie es vom Phosgen angenommen wird, das als Kampfgas im Kriege zur Entstehung von Lungenödemen und zum Bluterbrechen führte. Vom Chloroform ist auch bekannt, daß es eine erhebliche Störung von Fermentwirkungen hervorbringen kann.

Störung von Fermentwirkungen durch Chlorkohlenstoffe.

Da in der Veterinärpolizeilichen Anstalt vermutet wurde, daß bei den Giftwirkungen, die das Sb. 444, Tetrachlorkohlenstoff und Trichloräthylen hervorzubringen imstande sind, nicht nur chemische Wirkungen in der Zelle, sondern auch Störungen der chemischen Tätigkeit der Enzyme in der Zelle und außerhalb dieser stark in Frage kommen, wurde ich von der Anstalt beauftragt zu prüfen, ob im Reagensglas eine Schädigung solcher Enzymwirkungen durch Chlorkohlenstoffe nachgewiesen werden kann.

Daß solche Störungen durch Chlorkohlenstoffe in Betracht kommen, ist, soweit Chloroform in Frage kommt, nichts Neues mehr. Sehr starke Anästhetika setzen sowohl die Katalaseausbeute herab, als auch zerstören sie die Katalase stärker in vitro als schwache Anästhetika, wie Äther. Es stellte sich heraus, daß Deprimentia, wie Narkotika, die Oxydation herabsetzen und vielleicht liegt in dieser Tatsache die Ursache der Depression durch geringere Katalasebildung, während Stimulantia, wie Theobromin und Coffein eine Oxydationszunahme auslösen. (W. E. Burge). Ferner hemmt Chloroform nach Pugliese die Amylasewirkung des Speichels, die Pepsin- und Labwirkung (Freudenreich) und die Trypsinwirkung (Kaufmann und Treyer).

Auch sonst weiß man ja, daß die Tätigkeit der Enzyme von den verschiedensten Umständen beeinflußt und so gesteigert und auch gehemmt wird. Vielfach wirken sie nur unter bestimmten Voraussetzungen, wie die Voraussetzung neutraler oder schwach alkalischer Reaktion, bei andern schwach saurer Reaktion. Jedes Enzym bedarf zur Wirkung einer bestimmten Wasserstoffionenkonzentration; andere Enzyme werden durch verdünnte Säure oder Alkalien erst aktiviert oder bei bestimmter Reaktion zu voller Wirkung gebracht. Es gibt fermentartige Körper, die als Akzeleratoren die Wirkung der Enzyme beschleunigen (Gallensaft zu Trypsase, Aminosäure zu Amylase, Salzsäure zu Pankreasdiastase). Eine Zusammenfassung von H. Euler u. O. Svanberg „Über die Giftwirkung bei Enzymenreaktionen" stellt fest, daß bestimmte Körper für einzelne Fermente oder Enzyme enorm schädlich wirken können, so z. B. Hydroxylamin gegen Pepsin, Trypsin und Katalase. Nach Senter wirkt eine Verdünnung 1 : 1 000 000 der Cyanwasserstoffsäure schon stark vergiftend auf die enzymatische Wasserstoffsuperoxydspaltung. Es wird durch die angegebene Konzentration die Wirkung auf die Hälfte erniedrigt, während Kymosin und Pepsin nach Fuld und Spiro unbeeinflußt

bleiben. Dabei können kleinste Mengen von Giften die Wirkung fördern, größere sie hemmen (Abderhalden, Cämerer und Pinkussohn), Erepsin-Cyankali, Jakoby Ureaſe. Andere Enzymgifte sind Hydrazin für Pepsin und Trypsin (Aso), Anilin, gegen Katalaſe (Senter), Thymol gegen Speichelamylaſe (Schesinger und Pugliese), Tanin gegen Amylaſe und Pepsin, Aldehyd gegen Pepsin und Amylaſe (Loew), Formaldehyd gegen Ureaſe und Katalaſe (Senter)! Kohlenwaſſerſtoffe, Toluol sind nach E. Fiſcher für Enzyme unſchädlich. Nach Bernhard und Funk wird die Katalaſe durch Kobaltammoniake gehemmt, die Amylaſe gefördert, die Katalaſewirkung geſchädigt nach Faitelowitz durch Schwefelwaſſerſtoff, Blauſäure, Cyankali, Queckſilbercyanid, Bariumnitrat, Salzſäure, Eſſigſäure, Oxalſäure und Kaliumnitrat. Auch metalliſches Kupfer oder gekupfertes Waſſer ſchädigen die Blutkatalaſe (H. Haendel und E. Segel). Arſen und Antimonpräparate hemmen die Spaltung der Stärke durch Amylaſen: Antimonpräparate wirken giftiger als Arſen (J. Smoradinzew); der Peroxydaſegehalt des Blutes wird nach Ch. Bunting und C. K. Raud durch Phosphorvergiftungen erheblich herabgeſetzt und zwar ſtärker bei chroniſcher als bei akuter Vergiftung. Olaf Bergeim ſtellte Unterſuchungen mit der Nukleaſe der Darmſchleimhaut des Schweines an. Er fand, daß hemmend Ca, Ba, Ss L nicht Ug wirkten, die Salze von Hg. Ag und Cu hemmen faſt vollſtändig, weniger hemmen Bleiſalze. Hemmend wirken auch Oxalate, Tartrate und Fluoride; eine ſchwachſaure Reaktion iſt nicht ungünſtig. NaoH und NaHCO wirken günſtig; gering beſchleunigende Wirkung haben NaU, K 2 SO 4 und K J., etwas hemmend wirken NH 4, NO 2; vollſtändig hemmend KCN in O, 25 % Löſung. Durch Kochen verlieren faſt alle Enzyme ihre Wirkſamkeit; auch durch einſtündiges Erhitzen auf 56 %, die Zerſtörung der Enzyme erfolgt auch bei Aufbewahren in wäſſerigen Löſungen; Glyzerinextrakte ſind monatelang haltbar. Der Beſtrahlung durch Sonnenlicht widerſtehen die Enzyme manchmal ſehr lange. Ernſt teilt mit, daß ein in ſeinem Laboratorium bei zerſtreutem Tageslicht ſtehender Glyzerinauszug noch nach Monaten ungeſchwächte Wirkung auf H 2 O 2 zeigte.

Nach dieſen Beiſpielen und insbeſondere nach dem Beiſpiel des Chloroforms iſt damit zu rechnen, daß eine Schädigung der Enzymwirkung tatſächlich in Frage kommt. Auf dieſen Gedanken konnte man auch deshalb kommen, weil der Stoffwechſel, nach den hiſtologiſchen Bildern zu urteilen, erheblich geſtört erſcheint (Lipämie, Lipurie, fettige Infiltration der Leber). Meine Verſuche ſollten ſich auf leicht nachweisbare Enzyme beſchränken; das ſind Peroxydaſen, Katalaſen, Amylaſen und die Überprüfung der Wirkung, die man als Schardingers Reaktion der Milch zuſammenfaßt. Bevor ich auf die Technik meiner Verſuche eingehe, ſoll kurz das Weſentliche über die Enzyme zur Sprache gebracht werden.

Über Fermente, ihr Vorkommen, Wirken und Wesen.

Schönbein hat im Jahre 1813 die Existenz der Enzyme erkannt, es war ihm bekannt, daß H_2O_2 durch lebendes Gewebe in $2H_2O + O_2$ zerlegt wird. Beschamp fand 1883 das stärkespaltende Enzym, das Beuchet 1885 bestätigte; 1881 beschreibt Arnold die Eigenschaft der rohen Kuhmilch Guajaktinktur bei Anwesenheit von H_2O_2 zu bläuen. Buchner erst gelang es im Jahre 1897 das Enzym, das die Alkoholgärung bewirkt, von den Hefezellen abzutrennen und den Beweis zu erbringen, daß jeder Gärungsvorgang in letzter Instanz durch Enzyme verursacht wird. Unermüdlicher Forscherarbeit ist es inzwischen allmählich gelungen, die Enzyme und ihr Wirken im Körper nachzuweisen. Angefangen vom Speichel des Mundes finden wir durch den ganzen Verdauungstraktus Enzyme tätig, die die Verdauung betätigen.

Eiweißspaltende Enzyme finden sich im Magen. Das Labenzym Chymosin bewirkt die Gerinnung der Milch im Magen der Kälber. Im Pankreas wirkt das Trypsin weiter und beendet die Arbeit der peptischen Verdauungsprodukte zu Animosäuren; die Enterokinase bringt das Trypsin zur Wirkung. Das Lab-Enzym findet sich im Pankreas beim Hund, Schwein, Rind und Pferd. Im Darmsaft baut das Erepsin die bei de peptischen und tryptischen Verdauung verbliebenen Peptone und zwar auch die der Trypsinwirkung widerstehenden Polypeptide vollständig zu Animosäuren ab; in der Darmschleimhaut sind es die Nuklensen, die Nukleinsäuren spalten; letzte Arbeit verrichtet schließlich die Ureaſe, die z. B. Harnstoff bis zu Kohlensäure und Ammoniak zerlegt. Kohlenhydratspaltende Enzyme finden sich im Magen der Wiederkäuer als Zellulase, der vom Ptyalin des Speichels bei Mensch und Schwein vorgearbeitet wird. Die Pankreasdiastase zerlegt Stärke und Glykogene in Dextrose und Maltose; Maltase und Laktase teilen sich weiter in die Abbauarbeit. Im Darmsaft arbeitet noch die Invertase, die Rohrzucker invertiert und Maltase, die Maltose spaltet; die Dünndarmschleimhaut wirkt aber stärker invertierend als der Darmsaft.

Fettspaltende Enzyme, auch Lipasen oder Esterasen genannt, zerlegen Fette in Glyzerin und Fettsäuren, sie wirken bei der Verdauung im Magen, im Pankreas, in der Niere und im Knochenmark; in der Leber finden sich auch Lipasen und zwar höheren Gehalts in der nicht durchbluteten Leber als in der durchbluteten.

Oxydierend auf die letzten Spaltungsstücke der Nährstoffe wirken die Oxydasen oder Atmungsfermente ein, die A. Bach je nach ihrer Fähigkeit freien oder gebundenen Sauerstoff zu übertragen, seine Wirkung zu beschleunigen oder auch den Wasserstoff zu Reduktionsreaktionen nutzbar zu machen, weiter in Oxydasen, Peroxydasen Hydrooxydasen unterteilt. Eine besonders wichtige Rolle scheint die in keiner lebenden Zelle fehlende Katalase zu spielen, deren Wirkung insofern noch geheimnisvoller ist, als die der anderen Enzyme, als sie auf organische Peroxyde nicht wirkt, nur anorganisches H_2O_2 in Wasser und Sauerstoff zerlegt, H_2O_2 aber noch in keiner Zelle nachgewiesen werden konnte.

A. Scheunert, W. Grimmer und Peter Andriewsky, die das Vorkommen der Peroxydasen erforschten, stellten fest: Extrakte von Tonsillen enthalten keine Peroxydase, Sublingualdrüsen sind bei allen Tieren sehr reich an Peroxydase, während die Submaxillardrüsen von Pferd, Schaf und Hund gar keine, die des Schweines nur geringe, die des Rindes dagegen sehr große Mengen dieses Enzyms enthalten. Die Parotiden von Pferd, Rind und Schaf enthalten keine Peroxydase, während die vom Schwein und Hund ein starkwirkendes Enzym enthalten.

Die Extrakte kutaner Schleimhäute sind bei allen Tieren frei von Peroxydase, die Magenschleimhaut verhält sich verschieden. Beim Hund enthält sie keine guajaktinkturbläuenden Enzyme, beim Schwein nur in der Kardiadrüsenregion, beim Pferd nur in der Fundusdrüsenregion; beim Schaf und Rind enthält die Pylorusdrüsenschleimhaut eine Peroxydase; die Darmschleimhaut verhält sich bei den einzelnen Tieren sehr verschieden.

Im Dünndarm enthält die Duodenalschleimhaut beim Pferd und Schwein keine Peroxydase, beim Rind, Schaf und Hund dürfte eine solche vorhanden sein, doch ist ihre Wirksamkeit nur unbedeutend; die Schleimhaut von Jejunum und Ileum ist mit Ausnahme des Pferdes, bei dem nur in einem Falle durch Jejunalschleimhaut eine vorübergehende und deutliche Färbung erzielt werden konnte, peroxydasehaltig; besonders energisch ist die Wirkung dieses Enzyms bei Wiederkäuern. Im Enddarm bestehen Unterschiede: die Rektalschleimhaut ist bei allen Tieren frei von oxydierenden Enzymen; Coecal- und Kolon-Schleimhaut enthalten nur bei Wiederkäuern solche.

Peroxydasen, Katalase und Abwehrfermente finden sich überall im Blut. Fr. Middendorf stellte fest, daß der Katalasegehalt der roten Blutkörper größer ist als der der weißen, die Katalase des Blutserums und des Fibrins ist wahrscheinlich auf zellige Beimengungen zurückzuführen. Hämolyse hat erhöhte Katalasezahl zur Folge. Der Größe ihrer Katalasewerte zufolge haben die untersuchten Tiere folgende Reihenfolge: Pferd, Rind, Maus, Schaf, Ziege, Huhn und Frosch, Amylasen finden sich nach Ellenberger und Scheunert überall im Tierkörper, so im Blut, in der Leber, in den Muskeln, im Sekrete der Munddrüsen und des Pankreas.

Daß die Leukozyten Träger von Enzymen sind, schloß bereits Leber aus der Tatsache, daß aseptischer Eiter bei Temperaturen von 25° C die Gelatine verflüssigt und koaguliertes Fibrin zu verdauen vermag. Achalm stellte eine ganze Reihe von Enzymen in den Leukozyten des Eiters fest und zwar eiweißverdauende Enzyme, Labenzym, fettspaltendes und amylolytisches Enzym. Bergell wies ein fettspaltendes Enzym nach; neben diesen Enzymen findet sich in den Leukozyten auch ein oxydierendes Enzym; der Nachweis dieses Enzyms gelingt mit der Guajakprobe und mit der Röhrmann-Spitzer'schen Probe, die zum Nachweis von Oxydasen in den Organextrakten verwendet wird.

Enzyme fanden sich aber nicht nur im Körper und dessen Säften, sondern auch in den Sekreten und Exkreten; so kommen in der Milch auch der Haustiere Enzyme in abgestuften Mengen vor.

Grimmer fand, daß Schafmilch Peroxydase, Katalase und Diastase, Ziegenmilch Peroxydase und Diastase enthält. Gruber und Trautmann untersuchten Kuhmilch und fanden darin Oxydase, Peroxydase, Katalase und Diastase. Scheunert zählte unter den Milchenzymen ebenfalls die Oxydase, Peroxydase, Katalase, dann Reduktase, die stets in der Kuhmilch, in Ziegenmilch dagegen nur in Spuren vorkommt, ferner die Diastase als in der Kuh-, Ziegen- und Frauen-, Esel- und Hundemilch befindlich auf; außerdem stellt er fest, daß auch noch Lipase, Monobutyrase und Protease in der Milch gefunden worden sind. Ein amylolytisches Enzym wurde von Beschamp 1892 in der Frauenmilch gefunden. Spolverini zeigte, daß dieses Enzym auch in der Hunde- und Eselmilch vorkommt. Zaitscheck und v. Szonntach fanden Diastase in allen von ihnen untersuchten Milcharten.

Die Enzyme sind Stoffe unbekannter Zusammensetzung, die chemische Vorgänge explosionsartig beschleunigen und förmlich ohne sich aufzubrauchen in relativ minimalen Mengen wirken; sie werden von der lebenden Zelle gebildet, können aber auch getrennt von dieser die Umsetzung großer Mengen von Substanz bewerkstelligen; sie wirken spezifisch auf die Körper, auf die sie wirken und passen nach Fischer wie der Schlüssel zum Schloß. Über ihre chemische Zusammensetzung kann man nur vermutungsweise schließen. Willstaetter geiselte auf der Jahrhundertfeier deutscher Naturforscher und Ärzte vom 17.—24. September 1922 scharf die von manchen Seiten ausgesprochene Ansicht, daß die Natur der Enzyme uns bereits bekannt sei, daß man sie in eine bestimmte Gruppe einordnen könnte. Vor allem wandte er sich gegen die Ansicht die Enzyme einfach als Kolloide zu reklamieren.

Martin Jakoby beschließt ein Übersichtsreferat „Über Fermente" also: „Da man nach allem, was man heute weiß, sich nicht dazu entschließen kann, den Nachweis der Eiweißnatur der Enzyme als erbracht anzusehen, muß man die Beobachtungen von Euler und Josephsohn, nach denen auch hochwirksame, energisch gereinigte Sacharasepräparate noch die Zusammensetzung von Eiweißkörpern hatten, dahin deuten, daß die Eiweißkörper eben als geeignete kolloidale Träger der Enzyme dienen, daß also die wirksamen, chemisch aber noch unbekannten Enzymgruppen sich adsorptiv oder chemisch an das Eiweißmolekül anschließen".

Nach ihrer Wirksamkeit teilt man die Enzyme ein:

1. Hydrolysierende Enzyme
   a) proteolytische oder eiweißspaltende Enzyme (Pepsin, Trypsin, Erepsin, Labenzym, Chymosin).
   b) Kohlehydratspaltende Enzyme
   (Diastasen, Amylasen, Sacharasen, Zellulasen).
   c) Lipasen (fettspaltende Enzyme).
   d) Glukosidspaltende Enzyme.
2. Oxydierende Enzyme
   a) Oxydasen
   b) Peroxydasen.

3. Reduktasen
   a) Katalase
   b) Reduktase.

Wenn die Enzyme keinen Namen besitzen, werden sie nach dem Stoffe benannt, den sie angreifen: es wird in diesem Falle diesen die Silbe „ase“ angehängt.

Versuchsgruppe 1.

Die erste Versuchsgruppe sollte die Beeinflußung der Peroxydasen durch die Chlorkohlenstoffe erweisen. Die Peroxydasen wurden deswegen als Versuchsobjekte gewählt, weil ihr Nachweis in vitro außerordentlich leicht gelingt und weil man Peroxydasen in größter Menge in roten Blutzellen oder in Lösungen von roten Blutzellen nachweisen kann.

Die Peroxydasen bedürfen zu ihrer Tätigkeit der Anwesenheit von $H_2 O_2$. Dabei erfolgt die Spaltung in $H_2 O + O$; es entsteht also hiebei neben Wasser aktiver, atomistischer Sauerstoff, der durch die Oxydation von gleichzeitig zugesetzten chemischen Substanzen eine deutliche Verfärbung in der Reagensmischung herbeiführt. Die gebräuchlichsten Methoden zum Nachweis der Peroxydasen sind die von A r n o l d (alte Guajaktinktur), dann die von S t o r ch (Paraphenylendiaminchlorhydrat), die Benzidinprobe (2 % alkoh. Benzidinlösung) von W i k e s o h n und P e t e r s und die R o t h e n f u s s e r ' s ch e Probe, (Paraphenylendiamin-Guajakolprobe). Ich habe, da die Benzidinprobe in Blut sehr schöne Reaktionen gab, bei allen Peroxydasennachweisen einheitlich die Benzidinprobe angewendet. Ein Tropfen der Benzidinlösung, ein Tropfen Essigsäure, ein Tropfen Wasserstoffsuperoxyd genügte um in den peroxydasehaltigen Flüssigkeiten deutliche und klare Reaktionen zu erzielen; die Azoverbindung Benzidin wird oxydiert und in einen blauen Farbstoff umgewandelt. In Vorversuchen sollte vorerst rein qualitativ festgestellt werden, ob durch die neuerdings auch in der Tierheilkunde arzneilich angewendeten Tetrachlorkohlenstoffe eine Peroxydasenschädigung bewirkt wird. Es kam dabei weniger auf quantitatives Arbeiten an, wenn nur die Peroxydasen mengen bei den Kontrollröhrchen und den Tetrachlorkohlenstoffmischungen ursprünglich gleich waren. Zu den Vorversuchen wurde deshalb jeweils einem Hammel Blut entnommen, das Blut defibriniert, die Blutzellen gewaschen und von dem Zentrifugat der gewaschenen Blutkörper vorerst 1 ccm mit 9 ccm destilliertem Wasser vermischt, also eine Blutzellenlösung 1 : 10 hergestellt. Von dieser Lösung wurden in ein Reagensglas 2 ccm pipettiert; weitere dreizehn Röhrchen wurden mit 1 ccm Wasser beschickt. Daraufhin wurde aus dem 1. Röhrchen 1 ccm der Blutlösung in das zweite Röhrchen gegeben, gut mit dem darin befindlichen Wasser gemischt; aus dem zweiten Röhrchen wieder 1 ccm ins 3. Röhrchen u. s. f.. Auf diese Weise entstand eine Reihe von 14 Röhrchen, von denen das erste 1 : 10 der Blutzellenlösung, das 2. 1 : 20, das letzte 1 : 82020 Masse enthielt. Solche Reihen wurden jeweils zweimal oder nach Bedarf öfter

hergestellt und der zweiten, dritten Reihe, die auf ihre Wirkung zu prüfenden Chlorkohlenstoffe beigemischt. Zunächst wurden zwei gleiche Reihen angesetzt; der zweiten Reihe wurde ein Tropfen Kohlenstofftetrachlorid beigegeben. An diesen beiden Reihen wurde der Einfluß des Tetrachlorkohlenstoffes auf die Peroxydasen der Blutzellen zu messen gesucht. In der Reihe ohne Kohlenstofftetrachlorid wurde eine deutlich blaue Reaktion in den Gläsern 1 mit 14 erzielt; auch im Glas 14 war noch eine, wenn auch nur spurenmäßige Blaufärbung zu sehen. Es trat also in der Verdünnnug 1 : 82020 noch eine Reaktion auf. In der Reihe mit Kohlenstofftetrachlorid wurde eine ebenso deutliche Reaktion nur bis zur 10. Verdünnung sichtbar. Glas 10 wurde hauchartig blau. In dieser Reihe trat also eine Reaktion nur bis zur Verdünnung 1 : 5120 auf. Der Versuch zeigt also, daß Kohlenstofftetrachlorid mit sofortiger Wirksamkeit die Peroxydasen bedeutend schädigt. Die Schädigung betrug soviel, daß bei der angewandten Technik nur mehr die 16 mal stärkere Blutlösung wirkte als zuvor.

Bei einem weiteren Vorversuch mit einer sehr dünnen Blutzellenauflösung ging die Reaktion ohne Schwächung bis zu einer sechzehnfachen Verdünnung. Diese Blutzellenlösung war so dünn, daß der Lösung nicht die geringste Färbung durch Blutfarbstoff anzusehen war; es war das fünfte Röhrchen der Reihe. Mit zwei Tropfen Tetrachlorkohlenstoff versetzt ergab eine nachweisbare Reaktion nur mehr bis zum dritten und vierten Röhrchen. Es war also eine Depression bis zur Hälfte bezw. zu dem vierten Teil der Wirkung eingetreten. Der Versuch wurde in der Weise angestellt, daß die zwei Reihen mit Gummistopfen verschlossen vor der Prüfung 24 Stunden in den Brutraum gesetzt wurden; in den Röhrchen mit Tetrachlorkohlenstoff traten schwache Ausfällungen während des Brutschrankaufenthaltes auf; die Schädigung der Peroxydasenreaktion war aber die gleiche, auch wenn die Blutzellenreihe allein 24 Stunden im Brutschrank stand und dann erst Tetrachlorkohlenstoff zugefügt wurde, ein Zeichen dafür, daß nicht ausfallendes Eiweiß eine Adsorption der Peroxydasen bewirkte, sondern die Peroxydasen außerordentlich rasch durch das Kohlenstofftetrachlorid geschädigt wurden. Die Zeit der Chlorkohlenstoffeinwirkung spielt dabei eine nur sehr geringe Rolle. Die Depression der Peroxydasenwirkung war dieselbe, gleichgültig, ob der Chlorkohlenstoff nur momentan einwirken konnte oder ob er 24 Stunden im Kontakt mit der Peroxydasenlösung war.

In einer Versuchsreihe, die wie der erste Versuch angesetzt war, minderte die Zugabe von Tetrachloräthan in der geringen Menge von einem Tropfen die Reaktionen um 50%; auch in den dichteren Blutlösungen war eine deutliche Abschwächung der Reaktionen bemerkbar.

Die Schätzung der Depressionsgröße wurde in der Weise vorgenommen, daß die Größe der Verdünnung, die eben noch eine sinnlich bemerkbare Reaktion ergab, dividiert wurde durch die gleiche Größe einer Verdünnung der Reihe, der Tetrachlorkohlenstoff zugesetzt war; diese Verdünnung war die Reaktionseinheit für jeden Versuch.

Milchperoxydasen, auf die in sogenanntem „Bleiserum" geprüft wurde, zeigten die gleiche wesentliche Schädigung der Peroxydasen (vierfache Depression = 25%). Der Versuch wurde in der Weise angestellt, daß Milch gleicher Herkunft zu je 50 ccm in Erlmeier Kölbchen gefüllt wurde, die eine Milch wurde nicht vorbehandelt, die andere mit einigen Tropfen Tetrachlorkohlenstoff versetzt; zu beiden wurde 3 ccm Bleiessig zugesetzt und nach starkem Schütteln und kurzem Stehenlassen beide filtriert; die Verdünnungen wurden wie im ersten Versuch von 1 : 1 bis 1 : 2048 geführt und sofort nach dem Ansetzen auf Peroxydasen geprüft.

Im Anschluß an diese Vorversuche sollte, weil die für die Versuche hergestellte Blutzellenauflösung rasch verdarb und neuhergestellte Lösungen je nach dem Gehalt des Blutsedimentes an roten Blutzellen, je nach dem das Sediment dichter oder weniger dicht war, eine Lösung hergestellt werden, die Versuche von gewisser Konstanz ermöglichte. Bekanntlich halten sich Fermente in Glyzerinwassermischungen sehr lange. Es wurde deshalb Glyzerinwasser âã, also zu gleichen Teilen hergestellt und zu 90 ccm des Glyzerinwassers 10 ccm der eingangs erwähnten 1/10 Blutzellenlösung zugegeben.

Die Kontrollreihe ergab sofort nach dem Ansetzen der Probe die Reaktion noch in der Verdünnung 1 : 512; die Tetrachlorkohlenstoffreihe arbeitete nur bis 1 : 64; die Kontrollreihe demnach in achtfach stärkerer Verdünnung. Drei Wochen später ergab die gleiche Blutlösung die Reaktion immer noch bis zu einer Verdünnung 1 : 512.

Wurden die Blutzellenlösungen mit und ohne Tetrachlorkohlenstoff in offene Petrischallen gegossen und nach 2 ½ Stunden Brutschrankaufenthalt Verdünnung und Reaktion angesetzt, so arbeitete die Reihe ohne Tetrachlorkohlenstoff wieder bis zur Verdünnung 1 : 512; die beim Einstellen in den Brutschrank Tetrachlorkohlenstoff enthalten hatte, bis zur Verdünnung 1 : 256; demnach war zwar festzustellen, daß die dreiwöchentliche Aufbewahrung bei Zimmertemperatur eine wesentliche Schädigung der Peroxydasen nicht zur Folge hatte, daß aber, wenn die Verdünnungen mit Tetrachlorkohlenstoff zum Austreiben dieses Stoffes in den Brutschrank gestellt wurden, die Schädigung nicht mehr in gleicher Weise nachweisbar war, wie wenn die Mischung sofort nach Zugabe des Tetrachlorkohlenstoffes geprüft wurde.

Nachdem die Herstellung einer verhältnismäßig konstanten Peroxydasenlösung gelungen war, mußte die weitere Sorge für das Experiment die sein, die Lösung in ihrer anfänglichen Stärke tunlichst gleich herzustellen. Das konnte damit gelingen, daß man mit Wasser, Fuchsin und Pikrinsäure eine der Blutlösung ähnliche, in ihrer Farbtönung konstant bleibende Lösung herstellte, auf die durch kolorimetrischen Vergleich die Blutzellenlösungen eingestellt wurden. Die Lösung entsprach in ihrer Farbe einer etwa 2%-igen Blutzellenauflösung in destilliertem Wasser. Mit solchen Lösungen wurde in Zukunft gearbeitet. Sie ergaben fast stets konstante Reaktionen bis zum elften Glase, also bis zu einer Verdünnung der Blutlösung 1 : 1024, wenn keine Zusätze von Tetrachlor-

kohlenstoff erfolgten; waren solche gegeben, so reagierte nur mehr als Grenzverdünnung 1 : 128, die acht mal dichter war, wie die Kontrollverdünnung. Schon nach der vierten Verdünnung, also von 1 : 6 der ursprünglichen Lösungen, war die Blaufärbung wesentlich weniger intensiv, wie bei der Kontrolle. Der Abdampfversuch mit und ohne Tetrachlorkohlenstoff, der mit je 8 ccm Blutlösung angesetzt war, zeigte vor dem Abdampfen gleich starke Schädigung wie sonst auch; nach zweistündigem Abdampfen war ein Unterschied zwischen den Reaktionen der Lösungen mit und ohne Tetrachlorkohlenstoff nicht mehr vorhanden. Die Schädigung der Peroxydasen durch Tetrachlorkohlenstoff ist demnach reversibel. Bei einem Versuch, bei dem die Tetrachlorkohlenstoffröhrchen vier Tage lang mit den Kontrollen im Eisschrank standen, war wieder eine achtfache Depression nachzuweisen. Die Menge des zugesetzten Tetrachlorkohlenstoffes betrug 2 Tropfen auf die Mischung.

Ein Vergleich zwischen der Wirkung des Tetrachlorkohlenstoffes mit dem des Tetrachloräthans zeigte die Wirkung des letzteren vier mal so stark wie die des Tetrachlorkohlenstoffes; letzterer wieder hatte eine vierfache Depression zur Folge.

Nun sollte womöglich auch Hexachloräthan, ein kampferähnlich riechender, wachsähnlich aussehender Körper, geprüft werden; dieser feste Körper war schwer dosierbar; um ihn in feinste Verteilung zu bringen, mußte er in Alkohol und Äther gelöst werden. Während sich Tetrachlormethan und Tetrachloräthan in Alkohol allein lösten, war Hexachloräthan erst in der Alkoholäthermischung lösbar. Die Lösungen wurden entsprechend den Molekulargewichten der zu lösenden Körper eingestellt; zu der gewöhnlichen Kontrolle der Blutzellenlösungsreihe kamen nun in weiteren Versuchen Kontrollreihen mit je zwei Tropfen des Alkoholäthergemisches ohne Chlorkohlenstoffe. Die Schädigung, die mit Alkoholäther eintrat, war äußerst gering; sie betrug schätzungsweise nur wenige Prozente, während Tetrachlorkohlenstoff eine Schädigung um etwa 50 %, ebenso Tetrachloräthan eine Schädigung um etwa 50 % herbeiführte; Hexachloräthan hatte eine Wirkung auf die Peroxydasen unserer Blutlösung überhaupt nicht. Es darf hier vermerkt werden, daß das Hexachloräthan in der Blutlösung sofort zur Ausfällung kam. Die Probe wurde nach dreitägigem Aufenthalt der Mischung im Eisschrank angestellt.

Der oben angeführte Abdampfversuch erweckte den Gedanken, daß die bisher festgestellte Schädigung der Peroxydasenwirkung vielleicht weniger eine Fermentschädigung, als eine Schädigung des Reaktionsmechanismus, vielleicht der reagierenden Substanzen im chemischen Sinne ist. Aus diesem Grunde wurden weitere Versuche angestellt. Die Benzidinreaktion wurde verglichen mit der Reaktion nach Rothenfußer; die Unterschiede zwischen den Tetrachlorkohlenstoff enthaltenden und den Tetrachlorkohlenstoff freien Reihen war im wesentlichen in beiden Reaktionsversuchen gleich stark, doch erwies sich die Benzidinreaktion im allgemeinen als die schärfere. Die Rothenfußer'sche Probe verbrauchte

mehr Wasserstoffsuperoxyd wie die Benzidinprobe. Dann wurden Versuche, wie folgt, angestellt:

Tetrachlorkohlenstoff wurde mit Rothenfußers Reagens und mit Benzidinlösung zusammengebracht und später (nach 3 Stunden) die entsprechenden Blutverdünnungen zugegossen, nachdem bei der Benzidinreihe die Blutverdünnungen noch mit Essigsäure angesäuert waren; die Schädigung betrug bei den Chlorkohlenstoffreihen etwa 50%, während sie, wenn die Peroxydaselösung vor der Reaktion mit Chlorkohlenstoffen zusammengebracht wurde, das vierfache von dieser Schädigung betragen hatte.

Hierauf wurde $H_2 O_2$ mit einer gleichen Menge CCl 4 geschüttelt; eine Probereihe gab sofort und später unverändert die Reaktion. Es wurden nun gleiche Mengen Benzidinlösung, Wasserstoffsuperoxyd, verdünnter Essigsäure mit entsprechenden Mengen CCl4 vermischt und die Nacht über in den Kühlraum gestellt; ebenso Blut mit und ohne CCl 4. Am anderen Morgen angestellte Versuche ergaben, daß weder $H_2 O_2$ noch die verdünnte Essigsäure, noch die Benzidinlösung oder das Rothenfußer'sche Reagens irgend einen Schaden erlitten hatten. Nur Blut, das ohne und mit CCl 4 die Nacht über gestanden hatte, unterschied sich in den Versuchsreihen. Auch eine Reihe, in der die drei mit CCl 4 die Nacht über gehaltenen Stoffe ($H_2 O_2$,) verdünnte Essigsäure und Benzidinlösung) zur Erzielung der Reaktion verwendet wurden, ergab keinen Unterschied von einer Reihe, in der $H_2 O_2$, verdünnte Essigsäure und Benzidinlösung verwendet wurden, die nicht der Wirkung des CCl 4 ausgesetzt waren. Dabei hatte sich die Benzidinlösung und CCl 4 àà ebenso das Rothenfußer'sche Reagens und CCl 4 àà vollkommen ineinander gelöst. In der verdünnten Essigsäure und in $H_2 O_2$ lösten sich, wenn überhaupt, nur Spuren. Aus diesen Versuchen kann geschlossen werden, daß keines der zur Reaktion nötigen chem. Mittel geschädigt wurde und, daß die in den Reihen mit und ohne CCl 4 aufgetretenen Unterschiede eine Schädigung der Peroxydasenwirkung durch diese Chlorkohlenstoffe darstellen.

Bei einzelnen Vorversuchen hatte es den Anschein als ob frische Blutlösungen, die möglichst kurz nach der Blutentnahme hergestellt worden waren, durch Tetrachlorkohlenstoff wesentlich mehr geschädigt worden wären, wie wenn diese Blutlösungen längere Zeit gestanden hatten; z. B. ergab frisches Blut ohne Tetrachlorkohlenstoff Reaktionen bis zur elften Verdünnung, mit Tetrachlorkohlenstoff nur bis zur 7. Verdünnung, Unterschiede, die später weniger deutlich zu Tage traten; auch weitere Versuche, die bei frischem Blut erhebliche Schädigung erwiesen hatten, (4 — 8 fache Depression), zeigten bei altem Blute weniger deutliche Schädigungen. Die Reaktionsgrenzen schienen bei alten Blutlösungen undeutlicher; auch beim alten Blute betrug aber die Depression 50%; das alte Blut selbst reagierte aber scheinbar erheblich schwächer wie die frischen Lösungen. Diese Vorversuche wurden mit Vollblut, nicht mit gewaschenen Blutzellen angestellt.

Die nachfolgenden Versuche wurden nun wieder auf eine exakte

Unterlage gestellt und ganz frisches Blut vom 13. 11. 26. in Vergleich mit 2 Reihen tetrachlorkohlenstoffhaltigem gleichem Blute gebracht. Tetrachlorkohlenstoff wurde in eine Reihe so zugegeben, daß in jedem Röhrchen 2 Tropfen davon waren. Eine zweite Reihe wurde mit Blut hergestellt, das in einem Erlmeierkolben über Tetrachlorkohlenstoff geschichtet war und mehrere Male kräftig geschüttelt wurde. Die Reaktion ging beim frischen Blute bis zur 11. Verdünnung d. i. 1 : 1024; bei den Röhrchen mit 2 Tropfen Tetrachlorkohlenstoff nur bis zur Verdünnung 1 : 128; (achtfache Depression) bei dem Blute, das über Tetrachlorkohlenstoff geschichtet war, bis zur Verdünnung 1 : 512. (Siehe Tabelle Versuch 1).

Am 15. 11. 26 wurde Blut vom 13. 11. und frisches Blut vom 15. 11. 1926 (Aufbewahrung im Kühlraum) miteinander sowie mit Blut vom 12. 11. in der Wirkung verglichen; es ergaben sich ohne Tetrachloreskohlenstoff positive Werte beim frischen Blute bis zur zehnten, beim 12 stündigen Blute bis zur neunten, beim 2-tägigen Blute bis zur neunten und beim 3-tägigen Blute bis zur neunten Verdünnung. Die Farbennuancen ließen bei den zwei älteren Blutlösungen wesentlich zu wünschen übrig: sie waren am stärksten ausgeprägt bei der zwölfstündigen Blutlösung. Mit Tetrachlorkohlenstoff ergaben die gleichen Lösungen Reaktionen beim frischen Blut noch in der siebenten Verdünnung, beim zwölfstündigen Blute noch in der siebenten Verdünnung: ebenso war bis zur siebenten Verdünnung das Ergebnis beim 2-tägigen Blute, beim 3-tägigen ging die Reaktion etwas stärker bis zur achten Verdünnung. Beim frischen Blute war demnach die Depression achtfach, beim zwölfstündigen Blute vierfach, beim 2-tägigen Blute vier bis dreifach und beim 3-tägigen Blute zweifach. (Das Nähere ist aus am Schlusse der Arbeit angeführten Tabellen ersichtlich.) Bei dem mit Tetrachlorkohlenstoff zwei Tage lang im Kühlraum aufbewahrten Blute ließ sich ebenfalls eine weitere Depression von 2 bis 4 fach feststellen. Bei der Empfindlichkeit der Reaktionen war ein Hauptwert auf genaueste Einstellung der Blutlösungen zu legen. Diese hat auf das empfindlichste zu geschehen. Kleine Unterschiede in der Farbeneinstellung ergeben sehr starke Unterschiede in der Bewertung der Reaktionen.

Zusammenfassend kann die Wirkung von Chlorkohlenstoffen auf die Peroxydasen also beschrieben werden:

1. Die geprüften Chlorkohlenstoffe $C Cl_4$, $C_2 H_2 Cl_4$, und $C_2 Cl_6$ wirken hemmend auf die Peroxydasen; die Hemmung ist bei frisch gewonnenem Blute deutlicher und auffallender, wie bei Peroxydaselösungen, die durch Aufbewahrung einen Teil ihres Wirkungsgrades bereits eingebüßt haben.

2. Die Wirkung tritt sofort nach Zugabe der Chlorkohlenstoffe auf; durch längeren Kontakt der Chlorkohlenstoffe mit den Lösungen wurde eine stärkere Depressionswirkung nicht erzielt.

3. Die Wirkung der Chlorkohlenstoffe ist eine reversible d. h. nach vorsichtigem Austreiben des Chlorkohlenstoffes kann die Schädigung wieder verschwinden.

Versuchsgruppe 2.

Für den volumetrischen Nachweis der Katalasen werden in der Praxis gewöhnlich Eudiometer verschiedenster Art verwendet. Man kann die Probe in gewöhnlichen Gärkölbchen ausführen. Henkel, Lobeck und andere haben besondere Katalase konstruiert, die in Meßröhrchen den in den Mischgefäßen gebildeten Sauerstoff auffangen. Da das gebildete Gas, Sauerstoff, die Reaktionen selbst stört, wird auch mit Apparaten gearbeitet, bei denen das gebildete Gas abgelassen werden kann. Andere Apparate sind in der Weise konstruiert, daß in einer gleichmäßigen Glasröhre ein Agarpfropf durch den gebildeten Sauerstoff vorgetrieben wird (Köstler). Da es bei meinen Versuchen nicht auf quantitatives Arbeiten ankam, sondern lediglich darauf, wesentliche Störungen durch Chlorkohlenstoffe nachzuweisen oder nicht, konnten die Versuche auf die gewöhnliche Methode des Katalasenachweises beschränkt werden. Es wurde deshalb auch Abstand davon genommen, die Wirkung der Katalasen auf chemischem Wege zu prüfen. (Jolles und Koning Nachweis durch Jodometrie).

Für meine Versuche genügte der Lobeck'sche Katalaser, bei dem über dem Katalasemischkolben eine Gasfang- und Meßröhre derart aufgeschmolzen ist, daß eine feine Gaszufuhrröhre aus dem Mischkolben in den oberen Teil des Gasmeßapparates beim Nullpunkt den Sauerstoff austreten läßt; am Grund der Gasfangröhre öffnet sich eine Steigröhre, durch die das in der Meßröhre befindliche Wasser von dem gebildeten Sauerstoff ausgedrückt wird.

Das Blut ist bekanntlich außerordentlich katalasereich; eine Blutlösung von 1 ccm Blut und 9 ccm Wasser war unbrauchbar, weil in kürzester Zeit die gesamte Wassermenge aus der Meßröhre vertrieben wurde. Es wurde festgestellt, daß eine Blutlösung im Verhältnis 1 + 29 Wasser brauchbar ist.

Für den Versuch wurden jedesmal 5 ccm 1 % Wasserstoffsuperoxydlösung und 15 ccm Zusatzmischung im Mischgefäß vereinigt. Die Zusatzmischung bestand einmal nur aus Wasser, bei einer weiteren Kontrolle aus 14 ccm Wasser und 1 ccm Tetrachlorkohlenstoff; in einem Versuchsrohr aus 1 ccm Wasser und 14 ccm Blutlösung und in einem weiteren Versuche aus 14 ccm Blutlösung und 1 ccm Tetrachlorkohlenstoff. Eine weitere Kontrolle enthielt 19 ccm Wasser, kein Wasserstoffsuperoxyd, aber 1 ccm Tetrachlorkohlenstoff.

In 17 Stunden hatte das Röhrchen mit Blutlösung ohne Tetrachlorkohlenstoff 6 ccm Gas gebildet. Die gleiche Mischung mit Tetrachlorkohlenstoff aber ohne 1 ccm Wasser ergab dagegen 7 ccm Gas. Diese Vermehrung war ohne weiteres erklärlich, weil das Röhrchen, das in seinem Mischkolben 19 ccm Wasser und 1 ccm Tetrachlorkohlenstoff enthielt, ebenfalls Gas gebildet hatte und zwar in der Menge von 1,6 ccm. Es kann demnach nicht behauptet werden, daß eine wesentliche Schädigung der Katalasen durch Tetrachlorkohlenstoff eingetreten ist. Wenn man 1,6 ccm von 7 ccm Gas abzieht, bleiben 5,4 ccm, also 0,6 ccm weniger als 6,0 ccm. Die Katalasen wären in ihrer Wirkung nur um

10 % geschädigt worden.

In einem zweiten Versuch, in dem Tetrachlorkohlenstoff nur tropfenweise (2 Tropfen) zugesetzt wurde, bildeten 20 ccm Wasser mit 2 Tropfen Tetrachlorkohlenstoff 1,8 ccm Gas nach 17 Stunden. Die Gasmenge im Katalaseröhrchen + 2 Tropfen Tetrachlorkohlenstoff betrug 5,6 ccm gegenüber 5,1 ccm in der Katalasemischung des Röhrchens ohne Tetrachlorkohlenstoff. Dieser Menge stehen demnach 3,8 ccm gegenüber, wenn man von den 5,6 ccm 1,8 ccm abzieht. Die Schädigung betrug demnach 26 %.

Weitere Versuche brachten ähnliche Ergebnisse, auch wenn nicht mit Blutkatalase, sondern mit Milch oder mit Blutlösung in gekochter Milch gearbeitet wurde. Rohe Milch gab mit 5 ccm 1 % Wasserstoffsuperoxyd 2,3 ccm Gas: gleiche Milch mit 2 Tropfen Tetrachlorkohlenstoff und gleiche Mengen Wasserstoffsuperoxyd ergaben 2,5 ccm Gas. Dieselbe Milch gekocht und 5 ccm Wasserstoffsuperoxyd ergab 0,7 ccm Gas, mit Tetrachlorkohlenstoff aber 1,3 ccm Gas. Milch mit Wasser allein ergab 0,6 ccm Gas; gekochte Milch mit 5 ccm Wasser ergab 0,1 ccm Gas. Der gekochten Milch wurde Blutlösung (1 : 10) zugesetzt, daß ein Gesamtverdünnungsverhältnis 1 : 30 entstand; solche Milch ergab mit 5 ccm Wasserstoffsuperoxyd 6,0 ccm Gas, wenn auch zwei Tropfen Tetrachlorkohlenstoff dabei waren, 6,1 ccm Gas, während die gleiche Blutmilch mit Wasser 0,7 ccm Gas erzeugte und Wasser mit Tropfen Tetrachlorkohlenstoff ebenfalls 0,7 ccm Gas entwickelten. Der Blutmilch ohne Tetrachlorkohlenstoff mit 6,0 ccm Gas und der 5 ccm 1 % Wasserstoffsuperoxydlösung stehen nach Abzug von 0,7 ccm von 6,1 ccm ein Wert von 5,4 ccm gegenüber. Wieder wäre eine Depression von etwa 10 % festzustellen. In einem weiteren Versuch mit Tetrachloräthan mußten von 5,6 ccm Gas 0,8 ccm Gas (Wasser und 2 Tropfen Tetrachloräthan) abgezogen werdeu. In diesem Falle würde die Minderung, die in Betracht käme, nur 1/25 betragen.

Weitere Versuche, die in großer Anzahl angestellt wurden, verliefen gleichartig; es darf deshalb von deren genauer Beschreibung abgesehen werden. Sämtliche Beobachtungen wurden 12 bis 17 Stunden ausgedehnt.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß sich mit Tetrachlorkohlenstoff- und Tetrachloräthanzugaben zu den Katalasemischungen eine Herabsenkung der Katalasewerte erzielen läßt. Diese Senkung ist gering, 1/25 — 1/10 des ursprünglichen Wertes. Man kann sie nur dadurch feststellen, daß man hinreichende Kontrollen den Versuchen anfügt. Wenn man nur Röhrchen mit und ohne Chlorkohlenstoffe in den Versuch nimmt, ist wegen des Verdampfent der Chlorkohlenstoffe scheinbar eine Förderung der katalytischen Wirkung auf Wasserstoffsuperoxyd gegeben.

Die Messung der gebildeten O_2 Mengen in Eudiometern eignete sich für die Versuche schlecht.

Versuchsgruppe 3.

Versetzt man rohe Milch mit geringen Mengen einer Lösung, die aus 190 ccm aqua destillata, 5 ccm einer gesättigten alkoholischen Methylenblaulösung und 5 ccm Formalin besteht, und schüttelt sie, so wird die Milch hellblau. Im warmen Wasserbad tritt aber nach sehr kurzer Zeit eine Entfärbung des Farbstoffes infolge von Reduktion des Farbstoffes ein. Gekochte Milch zeigt diese Eigenschaft nicht. Auf Grund dieser Erscheinung sehen sich mehrere Autoren veranlaßt, die Anwesenheit eines eigenen originären Fermentes anzunehmen. Schardinger beschrieb diesen Vorgang im Jahre 1902: nach ihm ist die Reaktion benannt. Milch mit einer Methylenblaulösung ohne Formalin allein versetzt, bleibt sehr lang, 60 Minuten bis 12 Stunden und länger blau. Alte Milch oder Milch aus kranken Eutern soll die M.-Reaktion bedeutend rascher geben, je nach dem Grade der biologischen oder pathologischen Veränderung der betreffenden Milchprobe. Diese reduzierende Wirkung wird teils auf ein originäres Ferment, teils auf Bakterien zurückgeführt. Schmidt (40) bezieht die Entfärbung der M.-Lösung auf die Tätigkeit von Bakterien und die der F.-M.-Lösung auf Wirkung eines originären Fermentes. Diese Ansicht wird fast allgemein geteilt und die Reduktion des Methylenblaues von der Reduktion des Formalinmethylenblaues prinzipiell abgetrennt. Während die Entfärbung der Methylenblaulösung den Bakterien zugeschrieben wird, wird die Entfärbung der Formalinmethylenblaulösung allgemein als eine Wirkung originärer Körper angenommen, wobei allerdings noch strittig bleibt, ob der in Betracht kommende Körper ein Ferment darstellt oder ob es sich um eine fermentähnliche Wirkung des Kolloidgemisches Milch handelt, falls ihm Formalin zugesetzt ist.

Brand (41) spricht von einer 45 — 50° C Reaktion und von einer solchen, die bei 70° C ihr Optimum hat. Erstere wird nach seiner Ansicht durch Bakterien und Enzyme bewirkt, letztere durch reine Enzymwirkung. Versuche von Trommsdorff (42) mit steril ermolkener Milch und solche von Schern (43) bestätigten diese Ansicht. Die von Seligmann (45) behauptete rein bakterielle Wirkung für die F-M Reaktion wäre also hinfällig und die Ansicht Schmidts erhielte eine weitere Bestätigung. Koning verweist darauf, daß die letzten, obschon bakterienärmeren Milchstrahlen besser entfärben, als die ersten und daß der Bakterieninhalt deshalb allein nicht verantwortlich zu machen ist für die Reaktion. Ein Unterschied besteht aber zwischen Erstmilch und Letztmilch. Das originäre Fermeut fehlt im Kolostrum und häufig in der Milch frischmilchender Kühe.

Roemer und Sames fanden, daß gekochte Milch durch Zusatz von Ferrosulfatlösung die Reaktion erneut gibt und daß auch diese Reaktion wieder nach 1/2 stündigem Kochen verschwindet. In neuerer Zeit hat Ehrstroem festgestellt, daß langsam reduzierende Milch durch bestimmte Mengen von Buillonzusatz außerordentlich rasch entfärbt wird. Die Buillonreduktase wurde ebenfalls durch höhere Temperaturen zerstört. Trotzdem nach diesem Beispiel die Fermantnatur des Körpers, der beim

Schardinger'schen Phänomen wirksam ist, nicht feststeht, wollen wir im folgenden diesen Körper doch mit Schardinger Ferment bezeichnen.

In den folgenden Versuchen wurde versucht festzustellen, ob durch die Chlorkohlenstoffe die Aldehydkatalasen geschädigt werden, ob durch deren Beigabe die Schardinger Reaktion verhindert, gehemmt oder beschleunigt werden könnte. Zu diesem Zwecke wurden zwei Reihen hergestellt mit je 11 Röhrchen.

Die Vorversuche wurden wie folgt angestellt: Es wurden Reihen von je 5 ccm Milch mit aufsteigenden Mengen Schardingers Reagens versetzt (0,1, 0,2 — 1 ccm). Eine Reihe wurde mit Schardingers Reagens, die andere außerdem noch mit den entsprechenden Mengen der Lösungen der Chlorkohlenstoffe versetzt. Nach festem Schütteln wurden die Versuchs- und die Kontrollreihen in ein Wasserbad von 40° gestellt und die Zeit beobachtet, die bis zum Beginn der Entfärbung bezw. bis zur vollständigen Entfärbung verstrich. Dabei konnte folgendes festgestellt werden.

Die Reihe ohne Tetrachlorkohlenstoff entfärbte sich, soweit die Entfärbung überhaupt eintrat, beim ersten Versuch um 3 Minuten schneller als die Reihe mit Tetrachlorkohlenstoff. Es war demnach eine merkliche Verlangsamung der Reaktion durch den Zusatz festzustellen. Bekanntlich ist die Überführung des Methylenblau in die Leukoverbindung ein reversibler Prozeß. Wenn man die entfärbten Röhrchen schüttelt, kommt wieder eine Blaufärbung zustande. Als der Inhalt der Röhrchen, die über Nacht bei Zimmertemperatur standen, am nächsten Tag durch Schütteln wieder blau geworden waren und zur Entfärbung ins Wasserbad eingestellt wurden, trat die Reaktion erst etwa $^1/_4$ Stunde später als am Vortage auf und wieder war die Chlorkohlenstoffreihe in ihrer Entfärbung stärker gehemmt. Bei der Schardinger Reaktion war auffällig (gleichgültig ob mit oder ohne CCl 4 angesetzt wurde), daß nicht die geringsten Mengen des Reagens zuerst entfärbt wurden, sondern die Entfärbung trat zuerst in den Röhrchen 6 — 7 bezw. 4 mit 9 ein. Das sind Erscheinungen, wie wir sie von Ausfällungsreaktionen her kennen. Es scheinen demnach Optimalmischungsverhältnisse für das Wirken der Reaktion zu bestehen oder mit anderen Worten eine Änderung des Kolloidzustandes bei einem gewissen Mischungsverhältnis Formalin-Milch einzutreten, die zur Entfärbung des Methylenblau führt. Als die Reaktion ein drittes Mal durch Einschütteln von Luft eingeleitet und ihr Ablauf beobachtet wurde, waren die gleichen Phänomene sichtbar. Das dritte Mal trat die Reaktion lediglich noch verspäteter und verzögerter auf. (Versuch 1 der Tabelle.)

Ein weiterer Versuch wurde in der Weise angesetzt, daß die Milch mit CCl 4 zuerst nach kräftigem Schütteln eine Nacht im Kühlraum aufbewahrt wurde. Selbstverständlich wurde eine entsprechende Kontrolle ohne Zusatz ebenso behandelt. Auch hier zeigte sich eine wesentliche Verzögerung des Reaktionsablaufes in der CCl 4 Reihe. (Versuch 2 der Tabelle.) Auch in einem dritten Versuch, bei dem die gleiche Milch lediglich länger (2 Nächte und einen Tag) im Kühlraum stand, ist die

Verzögerung deutlich. (Versuch 3 der Tabelle) Dabei zeigte sich ein wesentlicher Unterschied gegenüber den Versuchen, die sofort nach Zusatz des CCl 4 angesetzt wurden, der 2 — 3 Minuten ausmachte. Wieder war zu bemerken, daß Röhrchen, die die größeren Mengen des Reagens enthielten, schneller entfärbt wurden als die übrigen.

Neben CCl 4 wurden noch Versuche mit Tetrachloräthan und Hexachloräthan gemacht. Letzteres ist bekanntlich ein Körper der sich nicht in Wasser löst; es mußte deshalb versucht werden ihn in feinster Verteilung in die Milch zu bringen. Dies geschah durch Zugabe einer Lösung des Hexachloräthans in Alkohol-Äther. Um nun Vergleichsmöglichkeiten zu bieten, mußten besondere Kontrollen ausgeführt werden. Diese Kontrollen bestanden wieder in einer Reihe mit Schardinger Reagens, in einer gleichen Reihe der Alkohol-Ätherlösung zugesetzt wurde und in den Reihen, in denen die Chlorkohlenstoffe mit Alkohol-Äther gemischt zugegeben waren. Aus den Versuchen ergab sich, daß die Alkohol-Ätherzugabe allein den Ablauf der Schardinger Reaktion in keiner Weise beeinflußte. Einen Einfluß übten erst die in Alkohol-Äther gelösten Chlorkohlenstoffe aus. Dabei war die Hemmung des Reaktionsablaufes bei Tetrachloräthan etwas stärker als bei Tetrachlorkohlenstoff und am stärksten bei der Reihe mit Hexachloräthan. Ein Unterschied bei dem in Alkoholäther gelösten Tetrachlorkohlenstoff und Tetrachlorkohlenstoff allein ist nicht festzustellen, (Versuche 4, 5, 6 der Tabelle.)

Die Versuche der Einwirkung von Tetrachlorkohlenstoffen auf den Ablauf der Schardinger-Reaktion lassen sich in folgende Sätze zusammenfassen:

1.) Die Chlorkohlenstoffe, mit denen Versuche angestellt wurden, wirken hemmend auf die Aldehydkatalase und zwar in der Reihenfolge 1.) C_2 Cl 6, 2.) C_2 H_2 CCl 4, 3.) CCl 4 in abfallendem Maße.

2.) Die Wirkung wird deutlicher, wenn man die Aldehydkatalasen durch öfteres Schütteln schwächt.

3.) Durch öfteres Schütteln wird die Reaktion verlangsamt.

4.) Längere Einwirkung der verwendeten Chlorkohlenstoffe hatte eine stärkere Hemmung zur Folge.

Versuchsgruppe 4.

Um die Einwirkung der Chlorkohlenstoffe auf die Amylasen der Milch kennen zu lernen, wurde eine Reihe von Versuchen angestellt, die alle gleichartig und eindeutig verliefen. Zu diesen Versuchen wurden stets je acht Reihen mit je 10 Gläsern hergestellt, jedes Glas enthielt 5 ccm Milch; jedem Glas wurden 1 bis 10 Tropfen einer 1 % Lösung von Amylum solubile beigegeben und zwar so, daß das erste Glas 1 Tropfen, das letzte Glas 10 Tropfen der Stärkelösung enthielt. Drei Reihen wurden nach $2^1/_2$ stündigen Stehen bei 37° C im Brutschrank auf die Amylasenwirkung geprüft durch Beigabe von je $^1/_2$ ccm Lugolscher

Lösung in jedes Glas. Von den drei Reihen enthielt die erste Reihe nur Milch, die zweite Reihe Milch mit Stärke, die dritte außerdem noch je 2 Tropfen CCl_4. Weitere fünf Reihen, die eine Nacht im Kühlraum aufbewahrt wurden, enthielten je 2 Tropfen der Lösungen der Chlorkohlenstoffe in Alkoholäther; eine Reihe mit je 2 Tropfen der Alkoholätherlösung diente als Kontrolle. Die Resultate wurden ebenfalls nach $2^1/_2$ stündigem Stehen im Brutschrank bei 37° C abgelesen.

Die Ablesung wurde in Zahlenwerten angegeben, wobei 0 bedeutet, daß die Milchmischung nach Zusatz der Lugolschen Lösung keine Stärke mehr nachweisen ließ. Die Zahlen 1 mit 5 bedeuten eine Beeinflußung der strohgelben Färbung, die eintrat, wenn keine Stärke mehr vorhanden war, durch verschiedene Mengen blau gefärbter Stärke.

Bei 5 ließ sich irgend eine Einwirkung auf die Stärke nicht mehr feststellen. Eindeutig ging aus den Versuchen eine die Amylasen in ihrer Wirkung gering beeinträchtigende Störung durch Zugabe von Chlorkohlenstoffen hervor. (Versuch 1 der Tabelle). Die Versuchsanordnung mit Milch eignete sich nicht besonders gut, weil der Amylasengehalt normaler Marktmilch sehr gering ist. Es wurden deshalb Amylasen künstlich aus weißen Blutzellen gewonnen. Dies geschah in der Weise, daß nach ausgiebigem Aderlasse beim Pferde das Burplasma gewonnen wurde. Durch Zentrifugieren des Plasma wurden die Leukozyten ausgeschleudert und in Glyzerinkochsalzlösung aufgeschwemmt. Zuerst wurde der Amylasengehalt dieser Leukozytenaufschwemmung in der Weise festgestellt, daß in einer Reihe mit je 5 ccm destilliertem Wasser 1 bis 10 Tropfen Leukozytenaufschwemmung zugegeben wurde. In jedes Glas kam 0,1 ccm 1% Stärkelösung. Bei einer zweiten Reihe wurde in jedes Glas außerdem noch 2 Tropfen Tetrachlorkohlenstoff zugesetzt. (Versuch 2 der Tabelle). In einem weiteren Versuch wurde die Menge der Leukozytenaufschwemmung gleichgehalten und die der Stärkelösung variiert. (Versuch 3 der Tabelle.) (1 — 10 Tropfen). Wieder wurde eine Reihe mit 3 Tropfen Tetrachlorkohlenstoff, die andere Reihe ohne Tetrachlorkohlenstoff angesetzt. Das ganze wurde über Nacht bei 37° gehalten und durch Zugabe von Lugolscher Lösung und auf Vorhandensein unverdeuter Stärke geprüft. Bei keinem der Gläser war noch Stärke festzustellen. Es wurden deshalb weitere, gleiche Reihen in gleicher Weise angesetzt und nach 3 stündigem Stehen im Brutschrank die Versuchsdauer beendet. Man konnte dabei folgendes beobachten:

Die Leukozytenaufschemmung bildet mit der Stärkelösung einen Ausfällungskomplex. Die Niederschlagsmenge erreicht bei bestimmter Mischung ein optimales Verhältnis der Ausfällung, so daß diese kurvenmäßig verläuft. Die überstehende Flüssigkeit ergibt mit Jod Reaktionen; sie wird braunrot, während Stärke ohne Leukozyten blauviolett bis blau wird. Die für den Versuch angegebenen Werte berücksichtigen diese Zwischenstufe der Amylasenwirkung nicht, sondern geben die Grenzen an, bis zu denen die überstehende Flüssigkeit strohgelb gefärbt, die Amylasenwirkung eine vollständige ist. Die Grenze wurde mit 0, schwächere Wirkungen mit 1 — 4 — 5 bezeichnet.. Fünf bedeutet keine Wirkung. In diesem Versuch hat die Tetrachlorkohlenstoffreihe eine stärkere Wirkung

auf die Stärkelösung ausgeübt als die Reihe ohne Tetrachlorkohlenstoff. In den Reihen, die gleiche Mengen Leukozytenaufschwemmung und steigende Mengen Stärkelösung enthielten, war ebenfalls stärkere Wirkung in der Reihe mit Tetrachlorkohlenstoff festzustellen. Sämtliche Kontrollen, die nur Stärke oder Stärke und $C\,Cl_4$ enthielten, wurden blau. Aus diesen Versuchen ist eine Förderung der Amylasen durch $C\,Cl_4$ zu entnehmen. Mehrfache Verschiebung der Versuchstechnik, z. B. 0,2 ccm Stärke, steigende Mengen Leukozytenaufschwemmung hatten stets das gleiche Ergebnis, während Tetrachloräthan und Hexachloräthan diese Wirkung nicht zeigten. Von Wiedergabe letzterer Versuchsergebnisse kann abgesehen werden, weil irgend ein Unterschied gegenüber den Reihen ohne Chlorkohlenstoffe nicht eintrat. Worauf die Wirkung des Tetrachlorkohlenstoffes in diesem Fall beruht, kann nicht erklärt werden.

In diesen Versuchen wurde eine gering gradige Hemmung der Milchamylasen durch Chlorkohlenstoffe festgestellt. Die Amylasen des Blutes dagegen zeigen eine leichte Förderung durch die Chlorkohlenstoffe.

Versuchsgruppe 5.

In einer fünften Versuchsgruppe sollte weiter nachgeprüft werden, ob besonders empfindliche Reaktionen fermentoider Natur durch die Chlorkohlenstoffe beeinflußt werden. Als Reaktionen für die Einwirkung wurden die Bindung des Komplementes an sensibilisierte Blutzellen, die Bindung von Ambozeptoren gegen Bakterien (Extrakte) und die Bindung des hämolytischen Ambozeptors an die Blutzellen gewählt. Es wurde versucht festzustellen, ob bei Zugabe von Tetrachlorkohlenstoff oder Lösungen in Äther-Alkohol von Tetrachlorkohlenstoff, Tetrachloräthan und Hexachloräthan die Bindung bakteriolytischer Ambozeptoren im diagnostischen System der Komplementablenkung bei Rotz nach Schütz-Schubert beienflußt wird. Die Zugabe von 1 Tropfen Kohlenstofftetrachlorid zur Auswertungsreihe (0,2 Serum-Extrakt, 0,2, 0,1 u. s. w. bis 0,01 Serum Extrakt) vor dem Inaktivieren der Sera hinderte weder den Zusammentritt des spezifischen Komplexes Rotzserum und Rotzantigen noch die Adsorption des Komplementes an diesen Komplex; auch werden die Mischungen Normalserum, Rotzantigen, noch das Normalserum, noch das Rotzserum für sich allein durch Tetrachlorkohlenstoff so geändert, daß Änderungen der Adsorptionsverhältnisse gegenüber dem Komplement der Normalreihe festzustellen wären. Die gewöhnliche Reihe mit Normalserum und Rotzserum war nach Beendigung des Versuches (10 Minuten Bindungszeit im Wasserbad, 15 Minuten Lösungszeit im Wasserbad) mit den Reihen, denen Tetrachlorkohlenstoff zugesetzt war, gleich; erst nach sehr langer Zeit (10 — 20 Minuten) konnte eine spezifische Einwirkung des Tetrachlorkohlenstoffes auf die Blutzellen bezw. deren Lipoide festgestellt werden. Die Blutzellen zeigten nach dieser Zeit die hämolytische Wirkung der Chlorkohlenstoffe. Gleiche Verhältnisse bestanden in den Adsorptionsverhältnissen zum Komplement, wenn man die bei Rotz üblichen Kontrollen ansetzt, z. B. einfacher und doppelter Extrakt, Ambozeptor

für sich allein, Komplement für sich allein; auch die Chlorkohlenstoffkontrollen verhielten sich wie die normalen. Es konnte lediglich eines festgestellt werden, daß der Ablauf der Blutlösung während der Lösungszeit eine sehr geringe Verzögerung erlitt, die aber, wie bereits erwähnt, das Endergebnis nicht beeinträchtigt. Keine Einwirkung hatte auch die Alkohol-Äthermischung für sich allein. Die bei den Versuchen verwendeten Reagenzien waren die üblichen, ein hochwertiges Schüttelextrakt von Rotzbazillen, frisch entnommenes Komplement vom Meerschweinchen, ein hochwertiger hämolytischer Ambozeptor und frisch gewaschene Blutzellen vom Schaf. Erwähnt mag noch sein, daß die stärkeren Eiweißlösungen (Komplement, Ambozeptor) bei Zusätzen der Alkohol-Ätherlösung milchige Trübung zeigten, die z. T. auf Eiweißausfällung, z. T. auf Ausfällung des $C_2 Cl_6$ beruhten. Diese Ausfällungen waren auf die Wirkung ohne wesentlichen Einfluß, auch dann nicht, wenn das Komplement mit den Chlorkohlenstoffen zusammengebracht drei Stunden im Kühlraum stand oder wenn der Ambozeptor 15 Stunden mit den Zusätzen im Kühlraum gelagert wurde. (Versuche 1, 2, 3, 4, 5, 6 der Tabelle).

Zusammenfassung der Ergebnisse:

Es wurde versucht durch Zugabe von Chlorkohlenstoffen zu fermenthaltigen Medien die Einwirkung verschiedener Chlorkohlenstoffe auf die Fermentwirkung zuprüfen. Derartige Einwirkungen sind ja bekanntlich für Chloroform und andere Anästhetika bereits festgestellt.

Bei den Versuchen ergab sich:

1.) Die Peroxydasen der Milch und der Blutzellen werden durch Tetrachlormethan, Tetrachloräthan und Hexachloräthan in ihrer Wirkung gehemmt; die Hemmung ist besonders deutlich bei frisch gewonnenen Blutlösungen, weniger deutlich bei Blutlösungen, die durch Aufbewahren einen Teil ihres Wirkungsgrades bereits eingebüßt haben.

2.) Die Wirkung tritt sofort nach Zugabe der Chlorkohlenstoffe auf; durch längeren Kontakt der Chlorkohlenstoffe mit den Peroxydasehaltigen Lösungen wird eine stärkere Depressionswirkung nicht erzielt.

3.) Die Depressionswirkung der Chlorkohlenstoffe auf Blutperoxydasen ist eine reversible, d. h. sie verschwindet wieder nach Austreiben der Chlorkohlenstoffe aus der Lösung.

4.) Wie die Peroxydasen werden auch die Katalasen in ihrer Wirkung gestört.

5.) Die Schardinger Reaktion wird in ihrem Ablauf durch Chlorkohlenstoffe beeinträchtigt.

6.) Bei den Amylasen der Milch war die Beeinträchtigung außerordentlich gering; die Amylasen aus weißen Blutzellen schienen

eine Förderung ihrer Wirkung zu erfahren; worauf diese Förderung der Wirkung beruht, konnte nicht festgestellt werden.

7.) Der Ablauf der Bindung und Wirkung von Ambozeptor und Komplement in Bindungsversuchen gegen Rotzbazillenextrakt und in hämolytischen Versuchen wurde so gering beeinflußt, daß höchstens eine geringgradige Verzögerung des Ablaufes der Reaktion eintritt, die Verzögerung aber nichts am Endergebnis des Versuches ändert.

8.) Die festgestellten Erscheinungen sind verhältnismäßig geringgradiger Natur; die Störungen der geprüften Fermentwirkungen treten nicht so stark auf, daß aus den Ergebnissen der Reagensglasversuche die Frage der Vergiftungen mit Chlorkohlenstoffen bei Haustieren damit beantwortet werden könnte, daß die Vergiftung durch Störung oxydierender Fermente des Körpers in ihrem Ablauf wesentlich beeinflußt wird.

Am Schlusse meiner Arbeit danke ich Herrn Professor Dr. W. Ernst, dem seinerzeitigen Direktor der Veterinärpolizeilichen Anstalt, ergebenst für die liebenswürdige Überlassung des Themas sowie für die nimmermüde, stets liebenswürdige, wohlwollende Unterstützung und Anleitung während der Arbeit selbst, ebenso danke ich Herrn Ministerialrat Dr. Niklas ergebenst dafür, daß er mir durch Gewährung eines Sonderurlaubs die Möglichkeit gab, vorliegende Arbeit in ihren Versuchen in der Veterinärpolizeilichen Anstalt in Schleißheim zu fertigen.

Literatur.

1. Dr. W. Ernst — „Grundriß der Milchhygiene für Tierärzte 1926“ S. 120 — 136, S. 326 — 330.
2. Dr. W. Ernst — „Mitteilungen aus der Bayer. Vet.-Pol. Anstalt“ (Sonderdrucke der M. T. W. Nr. 32, 34, 38, 50).
3. Dr. W. Ernst — M. T. W. 1926 S. 16.
4. Dr. Palm — „Praktische Heilversuche mit den neuen Leberegemitteln der Serapis“ M. T. W. Nr. 34 S. 735.
5. Dr. M. Thienel — „Neue erfolgreiche Versuche zur Bekämpfung der Leberegelseuche“ M. T. W. 1925 Nr. 29 S. 621, Nr. 32 S. 704.
6. Dr. M. Thienel — „Neuarbeiten zur medikamentösen Bekämpfung der Leberegelseuche“ M. T. W. 1926 Nr. 51.
7. Dr. M. Thienel — „Serapis Sb 444 in der großen Praxis“ M. T. W. 1926 S. 125, 126, 137, 138.
8. Willi Schefbeck — „Über Sojabohnenvergiftung und Vergiftung mit Chlorkohlenstoffen“ Inaug.-Dissert. 1926 S. 11 — 12, 15 — 18, S. 30, 34 — 41.
9. Gg. Dürschinger — „Über einige Leberegelmittel“ Inaug.-Dissert. 1926.
10. W. Grimmer — „Milchwirtschaftliches Praktikum“ 1926, S. 121 — 140.
11. Dr. Paul Heine — „Kompendium der Milchuntersuchung für Tierärzte“ 1925, S. 62 — 67.
12. J. Bauer — „Die Methodik der biol. Milchuntersuchung“ 1913, S. 38 — 52, S. 65 — 103.
13. W. Grimmer — „Beiträge zur Kenntnis der Fermente der Milch“ Abhandlung zur Erlangung der Lehrberechtigung an der K. Tierärztlichen Hochschule zu Dresden.
14. W. Ellenberger und A. Scheunert — „Lehrbuch der vergleichenden Physiologie der Haussäugetiere“, S. 32 — 39, S. 215 — 273.
15. E. Weber — „Die zur Unterscheidung roher und gekochter Milch dienenden Untersuchungsmethoden und ihre Verwendbarkeit im Dienste der Veterinär- und Sanitätspolizei“, Inaug. Diss. 1902.

16. Schern und Dr. W. Schellhaaje — „Über Guajak- und Guajakolprobe zur Unterscheidung von roher und gekochter Milch", B. T. W. 1911 S. 868.

17. C. J. Koning — „Milchenzyme", D. T. W. 1906, S. 659—62.

18. W. P. Wilkinson u. Ernst R. C. Peters — „Eine neue Reaktion zur Unterscheidung roher und gekochter Milch" sowie zum Nachweis von Wasserstoffsuperoxyd in der Milch", Zeitschr. f. Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel 16 S. 172 — 173.

19. Dr. W. Grimmer — „Eine neue Ausführungsweise der Peroxydasenreaktion", D. T. W. 1915 S. 362.

20. St. Ballmann — „Untersuchungen über den Fettgehalt, Säuregrad und Enzyme der Schafmilch" (Ref. von Rosenbruch) D. T. W. 1920 S. 390.

21. L. Bahr — „Über die Fähigkeit der Milch Methylenblau zu entfärben" (Skandinavisk Veterinär Tidskrift Arg. IV Häft 2 Febr. 1914 S. 28 — 32 Mars Häft 3 S. 50 — 59) (Ref. von Baß).

22. Tierarzt Mauderer — „Vergleichende Untersuchungen darüber, welche der bekannte Methoden zur Unterscheidung von roher und gekochter Milch am geeignetsten ist" D. T. W. 1902 S. 373 — 76, 381 — 84.

23. Graziani — „Beiträge zur Kenntnis der Oxydasen in der Milch" Giornale della R. Soc. It d' Igiene 1907 S. 145 D. T. W. 1907 S. 712 (Ref. von Frick).

24. Schern — „Beobachtungen über die Schardinger Reaktion der Milch" Biochem. Zeitschr. Bd. 19 S. 261, 284.

25. Frz. Middendorf, appr. Tierarzt aus Waldstedde i. Westf. — „Untersuchungen zur weiteren Kenntnis der Blut- und Milchkatalase" D. T. W. 1921 S. 546 — 547.

26. Dr. Lange, München — „Über Enzyme" M. Med. W. Nr. 28 S. 1168.

27. Tierarzt P. Andriewsky — „Über das Vorkommen oxydierender Fermente in den Schleimhäuten und einigen Drüsen des Verdauungsschlauches" D. T. W. 1914 S. 381, (Ref. von Lorscheid).

28. L. Pincusson — „Bericht über die Jahrhundertfeier der Gesellschaft deutscher Naturforscher und Ärzte" M. M. W. 1922 S. 1556 — 57.

29. Abderhalden — „Fermentforschung“ Jhrgg. 5 Nr. 2 S. 89—109.

30. Biedermann — „Natur und Entstehung diastatischer Fermente“ M. M. W. Jhrgg. 68, S. 14, 28.

31. Dr. E. Rothlin — „Natur und Entstehung diastatischer Fermente“ M. M. W. Jhrgg 68 Nr. 43 S. 1393 — 95.

32. Urban Olson — Hoppe Seylers Zeitschr. für physiol. Chemie Bd. 114 H. 1 S. 51 — 71, Bd. 117 S. 51 — 71.

33. Dr. H. Lewzen — „Über die Bedeutung und den praktischen Wert der gebräuchlichsten Untersuchungsmethoden der Milch“ D. T. W. 1911 S. 713.

34. H. Schmidt — „Über die Fähigkeit der Milch Methylenblau zu reduzieren“ Jahresberichte über Tierchemie S. 250.

35. Spolverini — „Die Oxydationsfermente in der Milch Jahresberichte über Tierchemie Bd. 35 S. 250 (Ref. von Henkel).

36. A. Faitelowitz — „Studie zur Kenntnis der Milchkatalase des Wasserstoffsuperoxyds und deren Lähmung durch neg. Katalysatoren“ Jahresbericht über Tierchemie Bd. 35 S. 250 (Ref. von Schulz).

37. Gg. Lochmann — W. Kolle und Wassermann 1913 Bd. II. S. 1301 — 1325.

38. Hugo Hähn — Handbuch der praktischen und wissenschaftlichen Pharmazie 1926 S. 28 — 65.

39. Prof. Dr. Gustav Beyer — „Die Bedeutung der Blutlipasen für den Fettstoffwechsel“ Zeitschr. f. Biol. Bd. 69 S. 364 — 72.

40. Emil Abderhalden und Artur Weil — „Studien über Lipasewirkung“ Fermentforschung Jhrgg. 4 S. 76 — 83.

41. Utz — „Nachweis gekochter und ungekochter Milch“ D. T. W. S. 90 (Ref. von Edelmann).

42. L. Michaelis und H. Pechstein — „Untersuchungen über die Katalase der Leber“ biochem. Zeitschr. S. 321 — 356.

43. S. G. Hedin — „Über die proteolytischen Enzyme in der Dünndarmschleimhaut des Rindes“ Hoppe Seylers Zeitschrift für physiol. Chemie Bd. 130 S. 43 — 54.

44. H. Euler und D. Svanberg — „Enzymatische Studien über Zuckerspaltungen" Hoppe Seylers Zeitschr. Bd. 105 S. 179 — 240.
„Über Giftwirkungen bei Enzymreaktionen" Fermentforschung Jhrg. 4 S. 29 — 69.

45. Olaf Bergein — „Der Einfluß von gewissen Agentien auf die Aktivität der Phosphornukleasen" Jahresberichte über Tierchemie Bd. 45 S. 427 (Ref. von Andreasch).

46. W. E. Burge — „Die Wirkung von pyretischen und antipyretischen Substanzen auf die Katalasebildung" Jahresberichte über Tierchemie S. 497 (Ref. von Andreasch).

47. W. E. Burge — „Wirkung des Hungerns auf den Katalasegehalt der Gewebe" Jahresberichte über Tierchemie S. 497 (Ref. von Andreasch).

48. J. Sokolowski — „Das fettspaltende Ferment des Blutserums und seine Beeinflussung durch radioaktive Substanzen" Strahlentherapie 6 S. 419 — 92 (Ref. von Andreasch).

49. Watanabe — „Der Erfolg der Verabfolgung verschiedener Substanzen auf die Kaninchen" Jahresberichte über Tierchemie Bd. 49 S. 98 (Ref. von Zehuisen).

50. W. E. Burge — „Wirkung gewisser Reizmittel zur Steigerung und gewisser Lähmungsmittel zur Herabsetzung der Oxydation" Jahresberichte über Tierchemie 48 S. 438 (Ref. von Zehuisen).

51. W. E. Burge — „Zerstörung der Hormone, Proenzyme, Enzyme durch ultraviolettes Licht" Jahresberichte über Tierchemie Bd. 48 S. 427 (Ref. von Hailer).

52. Jean Piccard u. Mary Rising — „Ein Versuch die Milchenzyme zu filtrieren" Jahresberichte über Tierchemie Bd. 48 S. 133 (Ref. von Andreasch).

53. Koga, Torao — „Über die diastatische aktivierende Kraft des Serums" biochem. Zeitschr. Bd. 141 S. 411.

54. Rona Peter und E. Bloch — „Beiträge zum Studium der Giftwirkung, über die Wirkung des Chinins auf Invertase" D. T. W. 1922 S. 588.

55. Dr. Fritz Edelmann — „Über den Einfluß des Cholestearingehaltes des Blutes auf die Wirksamkeit der Blutlipase" Zeitschr. für experimentelle Medizin Bd. 35 S. 322 — 27.

56. Dr. Frz. Krömke	„Über Serum und Organlipase und ihre Chininempfindlichkeit bei experimenteller Organschädigung durch Hunger, Röntgenbestrahlung und künstlichen Ikterus" Archiv für experim. Pathologie und Pharmakologie 100, 101 S. 77 — 94.
57. Dr. E. Bach	„Über die Beeinflussung des Katalasegehaltes des Blutes" Zeitschr. für klin. Medizin Bd. 94, 95 S. 88 — 101.
58. Funk — Eberhard	„Über den Einfluß von Kobaltammoniaken auf die Fermentwirkung der Katalase und Amylase" biochem. Zeitschr. Bd. 128 S. 108.
59. Pincussen L. u. J. L. Anagnostu	„Über Beeinflussung der Fettspaltung biochem. Zeitschr. 1922 S. 268.
60. Jakoby Martin u. J. Schimizu	„Cholestearinwirkuug auf die Ureaſe" biochem. Zeitschr. S. 100 — 103.
61. Rona P. u. H. E. Haas	„Über die Wirkung des Chinins und Atoxyls auf die Nierenlipase" biochem. Zeitschr. Bd. 141 S. 222 — 36.
62. Bleyer B. und H. Schmidt	„Die Einwirkung von Alkalien auf die Kohlehydrate; die Einwirkung von Natriumsulfit auf die Kohlehydrate, insbes. auf Glukose; die Einwirkung von Natriumbiosulfat auf die Kohlehydrate" biochem. Zeitschr. Bd. 141 S. 270 — 78.
63. Morazewski W.	„Über Blutkatalase" biochem. Zeitschr. Bd. 141 S. 470 — 74.
64. Smorondizew J. A. und Fr. E. A. Jlini	„Zur Frage nach dem Einfluß der Arsen- und Antimonverbindungen auf die fermentative Funktion des Organismus". „Der Einfluß einiger Antimon- und Arsenpräparate auf die Speichelamylase" biochem. Zeitschr. Bd. 142 S. 296 — 303.
65. Pincussen L. u. N. Kato	„Fermente und Licht" biochem. Zeitschr. Bd. 142 S. 228 — 38.
66. Hagihara Jitsuichi	„Über den Einfluß von Kolloiden auf Fermente" biochem. Zeitschr. Bd. 142 S. 222 — 27.

67. Smorondizew J. A. und A. S. Konsikow „Der Einfluß verschiedener Präparate der Chiningruppe auf die fermentativen Funktionen des Organismus“.
„Der Einfluß einiger Chinin- und Harnstoffverbindungen auf die Speichelamylase“ biochem. Zeitschr. Bd. 140 S. 12 — 28.

68. Dr. E. Bach und Dr. W. Lewinger „Über das katalatische Vermögen des Blutes“ Zeitschr. für klin. Med. Bd. 94, 95 S. 88 — 108.

69. Artur Scheunert, W. Grimmer und P. Andriewsky „Studien über die Topographie der Peroxydasen im Verdauungsschlauch und über ihren Nachweis“ biochem. Zeitschrift Bd. 53 S. 300 — 320.

Lebenslauf.

Ich bin am 7. Mai 1893 in Landshut in Bayern geboren; meine Eltern besitzen heute in Schwarzach bei Bogen eine Bau- und Möbelschreinerei. Vom Jahre 1904 bis 1913 besuchte ich das humanistische Gymnasium in Straubing, das ich 1913 absolvierte.

Im gleichen Jahre begann ich meine Studien an der Tierärztlichen Hochschule in München. Meine Studien wurden durch den Krieg unterbrochen. Im Oktober 1914 zog ich als Freiwilliger ins Feld und wurde der 3. Kompagnie des Kgl. 2. bayer. Inf. Regts. zugeteilt; dem Regt. gehörte ich bis Mai 1915 an; im Mai 1915 wurde ich der 5. Kompagnie des neugebildeten Kgl. Bayer. 24. Inf. Regt. zugeteilt. Bei diesem Regiment machte ich auch einen Offizierkurs in Lewarde bei Douai mit und wurde zum Offizier der Reserve der Infanterie qualifiziert. Am 23. Juni 1916 wurde ich beim Sturm auf Thiaumont und Fleury während der Offensive vor Verdun verwundet und kam zunächst ins Lazarett nach Germersheim und von da nach Würzburg. Von Würzburg wurde ich als Genesender nach München ans Pferdelazarett versetzt, wo ich Gelegenheit hatte meine Studien fortzusetzen und am 17. März 1917 zum Feldunterveterinär ernannt wurde. Als solcher wurde ich in der Folge bei der K. l. Train Ersatzabtlg. in München, bei der II. Ers.-Abtlg. des Kgl. bayer. 7. Feld. Art. Regt. P.R.L. und bei der Bayer. Ers.-Abtlg. der Geb. Kan. Abtlgn. Nr. 2 und 4 verwendet. Am 14. 6. 1917 wurde ich zum Feldhilfsveterinär ernannt und kam als solcher zur M. W. K. 230 in den Verband der 6. pr. K. D. wieder ins Feld; im Herbst des gleichen Jahres wurde ich zur Div. Ferna 430 zur 30. Bay.- R. J. D. versetzt, bei der ich bis Kriegsschluß verblieb.

Nach der Demobilisierung meiner Truppe kam ich als Lagerveterinär nach dem Lager Hammelburg, wo ich noch bis 28. Februar 1919, bis alle Pferde verteilt waren, Dienst tat.

Nach meiner Entlassung aus dem Herresdienst setzte ich meine Studien an der Tierärztlichen Fakultät der Universität München fort und erlangte am 11. März 1920 meine Approbation als Tierarzt.

An der Befreiung Münchens von der Räteherrschaft nahm ich bei der Batterie Fürhölzer beim Freikorps Epp teil.

Nach meiner Approbation vertrat ich zunächst den erkrankten Distriktstierarzt, Herrn Dr. Stöckl, in Burghaslach und übernahm dann eine eigene Praxis in Schmidmühlen i. d. Oberpfalz. Im Oktober 1920 kam ich zum Zuchtverband für Fleckvieh in Niederbayern als Assistent.

Die Prüfung für den tierärztlichen Staatsdienst bestand ich im Jahre 1922; ebenso die Prüfung für den staatlichen Tierzuchtdienst in Bayern und wurde darauf zum Tierzuchtassessor ernannt.

Die gemäß § 13 Ziff. 2 der K. Allerh. Verordnung vom 21. Dezember 1908, Tierärzte betr., vorgeschriebene, dreimonatliche tierärztliche Tätigkeit habe ich am Schlachthofe in Landshut erfüllt; vom 12. Januar mit 17. Januar 1925 studierte ich die Technik der bakt. Fleischbeschau an der Veterinär-Polizeilichen Anstalt in Schleißheim.

In den Monaten September und Oktober 1926 war ich zur Durchführung der für die vorliegende Arbeit nötigen Versuche wiederum an der Veterinär-Polizeilichen Anstalt in Schleißheim.

Seit Oktober 1920 bin ich ununterbrochen im Tierzuchtdienst in Niederbayern tätig.

An Kriegsauszeichnungen besitze ich das Bayer. M. V. K. I. Kl. und das E. K. II. Kl.; nach dem Kriege wurde mir verliehen die goldene Hochzeitserinnerungsdenkmünze und das Prinz Alphons-Abzeichen. Vom Zuchtverbande für Fleckvieh in Niederbayern erhielt ich anläßlich seines 25 jährigen Jubiläums die bronzene Ehrendenkmünze des Verbandes.

Versuchsgruppe 1.

Versuch 1.

Glas	Blutlösung (frisch)	Ergebnis ohne CCl_4	Ergebnis mit 2 Tropfen CCl_4	frische Blutlösung über CCl_4 geschichtet
I	1	3	3 — 4	3 — 4
II	1/2	3 4	4	4
III	1/4	5	4	4 — 5
IV	1/8	5	4	5
V	1/16	5	3 — 4	4 — 5
VI	1/32	4 5	3	4
VII	1/64	4	0 — 1	3
VIII	1/128	3	0 — 1	2
IX	1/256	2	0	1
X	1/512	1	0	0 — 1
XI	1/1024	0 1	0	0?
XII	1/2024	0	0	0

Versuch 2.
am 15. XI. 1926.

2 Tage altes Blut vom 13. XI. 1926 — 3 Tage altes Blut vom 12. XI. 1926

Glas	Blutlösung	Ergebnis (2 Tage altes Blut)		Ergebnis (3 Tage altes Blut)	
		ohne CCl_4	mit 2 Tropfen CCl_4	ohne CCl_4	mit 2 Tropfen CCl_4
I	1	4	2	3	1 — 2
II	1/2	4 — 5	2 — 3	3 — 4	2 — 3
III	1/4	4	3	4 — 5	3
IV	1/8	4 — 5	3 — 4	4 — 5	3
V	1/16	4 — 5	3 — 4	4 — 5	2 — 3
VI	1/32	3 — 4	2 — 3	3 — 4	2 — 3
VII	1/64	3	1	3	1 — 2
VIII	1/128	2 — 3	0?	2 — 3	0 — 1
IX	1/256	0 — 1	0	0 — 1	0
X	1/512	0?	0	0?	0
XI	1/1024	0	0	0	0
XII	1/2048	0	0	0	0

frisches Blut vom 15. XI. 26. 12 stündiges Blut vom 15. XI. 26.

Glas	Blutlösung	Ergebnis (sofort)		Ergebnis (nach 12 Std.)	
		ohne CCl_4	mit 2 Tropfen CCl_4	ohne CCl_4	mit 2 Tropfen CCl_4
I	1	2 — 3	5	4 5	5
II	1/2	3 — 4	3 — 4	5	3 — 4
III	1/4	4 — 5	4	5	4
IV	1/8	5	3 — 4	5	3 — 4
V	1/16	5	2 — 3	5	2 — 3
VI	1/32	3 — 4	1 — 2	4 — 5	1 — 2
VII	1,64	3	0 1	3 — 4	0 — 1
VIII	1/128	2	0	2	0
IX	1/256	1	0	0 — 1	0
X	1/512	0 — 1	0	0	0
XI	1/1024	0	0	0	0
XII	1 2048	0	0	0	0

Versuchsgruppe 3.

Versuch 1.

Versuchsbeginn 11 Uhr 41 Minuten.

Verlauf:

Reihe mit CCl 4	Reihe ohne CCl 4
Nach 12 Minuten	
immer noch keine Änderung der Farbe	weißl. Verfärbung von Glas 4 und 6
nach 15 Minuten	
die mittleren Röhrchen werden heller in der Farbe	Glas 4 und 6 sind fast weiß, Glas 5 wird heller, ebenso 7, 8 und 9
nach 19 Minuten	
Glas 3 und 6 wird weißlich	Glas 9 wird weißlich, 6 ist weiß, 3, 4 und 5 sind fast weiß
nach 26 Minuten	
ohne besondere Änderung	3, 4, 5, 6 weiß, 2 und 7 noch nicht ganz weiß, 8 blaß blau
nach 27 Minuten	
2, 3, 4 ziemlich weiß, 5 und 6 noch sehr bläulich, 1, 8, 9 und 10 noch blau	ohne besondere Änderung
nach 30 Minuten	
In 2, 3, 4, 5, 6 ist noch ein blauer Streifen, 7, 8, 9, 10 sind noch ganz blau	2, 3, 4, 5, 6 weiß, 7 fast weiß, 8 und 9 weißlich, 10 noch blau
nach 39 Minuten	
2, 3, 4 weiß, 6 noch bläulich, 7 noch stark blau, 8, 9, 10 wie vorher	2 mit 7 weiß, 8 und 9 haben sich bedeutend aufgehellt, 10 ist noch blau, ebenso 1
nach 49 Minuten	
2 mit 5 weiß, 6 hat nur kleinen blauen Streifen, 7 noch bläulich, 1, 9 und 10 ist unverändert	2 mit 7 weiß, 8 und 9 fast weiß, 1 zeigt noch bläulichen Schimmer, 10 ist etwas heller geworden.
nach 57 Minuten	
1 m. 5 weiß, 6 hat noch einen kleinen blauen Streifen, 8 und 9 haben einen weißlichen Hauch, 10 ist ohne Änderung	1 m. 7 sind weiß, 8 und 9 sind fast weiß, 10 wird heller

Reihe mit CCl_4	Reihe ohne CCl_4
nach 69 Minuten	
ohne besondere Änderung	1 m. 9 sind weiß, 10 wird heller, ist aber noch blau
nach 71 Minuten	
1 m. 6 sind weiß, 7 hat noch bläulichen Schimmer	1 m. 9 sind weiß, 10 ist ohne Änderung
nach 94 Minuten	
1 m. 7 sind weiß, 8 ist ziemlich hell, 9 und 10 sind ohne Änderung	wie oben
nach 350 Minuten	
8 ist noch blaß blau, 9 blau	
10 vom Boden des Glases bis zur halben Höhe weiß	10 vom Boden des Glases bis in halbe Höhe weiß.

Hier wurde der Versuch abends nach 8 Uhr 45 Min. abgebrochen.

Versuch 2.

Milch mit CCl_4	Milch ohne CCl_4
Nach 7 Minuten	
Aufhellen aber noch sehr blaue Färbung	6, 7, 8, 9, 10 nähern sich schon sehr einer weißen Farbe
nach 10 Minuten	
noch in keinem Glase Weißfärbung	die Gläser 6 m. 10 sind schon weiß
nach 11 Minuten	
die Gläser 4 m. 10 sind weiß, nur an der dem Wasserboden zugeneigten Seite sind noch blaue Pünktchen	die Gläser 3 m. 10 sind weiß
nach 14 Minuten	
die Gläser 1 und 2 sind noch blau	2 mit 10 sind weiß
nach 16 Minuten	
Auch Glas 2 ist weiß	Glas 1 ist noch blaßblau
nach 19 Minuten	
Glas 1 ist noch bläulich, die blauen Pünktchen verschwinden	Glas 1 ist weiß geworden
nach 22 Minuten	
Alle Gläser sind weiß, die Pünktchen sind verschwunden	ohne Änderung

Versuch 3.

Versuchsbeginn 10 Uhr 57 Minuten

Milch mit CCl 4	Milch allein
11^{01}	
alle Röhrchen sind noch blau, wohl aber etwas heller geworden	die Röhrchen 3 mit 8 sind schon sehr weiß geworden
11^{03}	
Die Röhrchen hellen sich mehr und mehr auf	die Röhrchen sind mit Ausnahme eines schmalen Längsstreifen weiß
11^{04}	
die Röhrchen 4 mit 8 sind fast weiß	die Röhrchen 3 mit 8 sind weiß geworden
11^{05}	
die Röhrchen 1 und 2 sind noch blau, 4 mit 10 sind weiß	die Röhrchen 2 mit 10 sind weiß
11^{06}	
auch Röhrchen 3 ist weiß	die Röhrchen 1 mit 10 sind weiß
11^{09}	
auch Röhrchen 2 ist weiß	— — —
12^{14}	
auch Röhrchen 1 ist weiß	— — —

Versuch 4.

(mit $C_2 H_2 Cl_4$, gelöst in Alkohol-Äther)

Versuchsbeginn 10 Uhr 32 Minuten

Reihe mit $C_2 H_2 Cl_4$	Reihe mit Milch allein
10^{37}	
hier ist die Färbung in den gleichen Gläsern noch sehr blau	in der Reihe nehmen die Gläser 5 mit 10 rasch eine weißere Färbung an
10^{40}	
Glas 4 ist noch bedeutend dunkler in dieser Reihe	auch Glas 4 ist ziemlich weiß geworden
10^{42}	
die Gläser 7, 8, 9 und 10 sind fast weiß	Glas 5 und 6 sind ganz weiß, die Gläser 4, 7, 8, 9 haben noch einen schmalen blauen Streifen

Reihe mit $C_2 H_2 Cl_4$	Reihe mit Milch allein
10^{43}	
auch in dieser Reihe sind die Gläser 3 mit 10 weiß geworden	die Gläser 3 mit 10 sind völlig weiß
10^{45}	
hier sind die Gläser 1 und 2 noch blau	Glas 2 ist weiß, 1 ist noch bläulich
10^{46}	
Glas 2 ist auch weiß	Glas 1 ist fast weiß
10^{48} — — —	Glas 1 ist weiß
10^{52}	
auch in dieser Reihe ist Glas 1 weiß	

Versuch 5.

(mit $C_2 Cl_6$, gelöst in Alkohol-Äther)

Versuchsbeginn 10 Uhr 04 Minuten.

Reihe mit $C_2 Cl_6$	Reihe mit Milch allein
10^{10}	
hier gleiche Färbung in Glas 6	deutliche weißliche Färbung in den Gläsern 4, 5, 6, 7, 8, 9
10^{11}	
die Gläser 6, 7, 8, 9, 10 werden heller, die Weißfärbung ist aber noch sehr verschwommen	Die Weißfärbung schreitet hier rascher fort
10^{13}	
in dieser Reihe sind noch breite blaue Streifen in den Röhrchen	die Gläser 5, 6 und 10 sind weiß, in den anderen Gläsern 4, 7, 8, 9 sind noch schmale blaue Streifen
10^{14}	
ohne Änderung	Glas 2 ist auch weiß
10^{16}	
die Gläser 3 mit 7 sind weiß	die Gläser 3 mit 9 sind weiß geworden
10^{17}	
die Gläser 3 mit 8 sind weiß	die Gläser 3 mit 10 sind weiß geworden
10^{19}	
Glas 2 ist auch weiß, die Gläser 9 und 10 sind immer noch bläulich	ohne Änderung

10^{21}	
die Gläser 9 und 10 sind weiß, Glas 1 ist noch stark bläulich	Glas 1 ist auch fast weiß
10^{26}	
Glas 1 ist noch stark bläulich	Glas 1 ist weiß
10^{31}	
Auch hier ist Glas 1 weiß	

Versuch 6.

Versuchsbeginn 10 Uhr 50 Minuten.

Reihe mit Alkoholätherlösung	Reihe ohne nur Milch	Reihe mit CCl_4 in Alkohol
11^{50}		
In den Gläschen 5—10 deutliche Weißfärbung	hier in diesen Gläsern deutliche Verfärbung	hier noch Blaufärbung
11^{52}		
die Gläser 5 — 10 erscheinen fast weiß	hier ebenso	hier noch starke Blaufärbung
11^{54}		
die Gläser 5, 6, 9 und 10 sind weiß	hier ebenso	hier noch starke Blaufärbung
11^{55}		
die Gläser 3 — 10 sind weiß, 1 ist noch bläulich, 2 ist fast weiß	ebenso	3—10 sind immer noch bläulich, 1 und 2 sind noch sehr blau
11^{58}		
Glas 2 ist weiß	ebenso	3 mit 10 sind weiß geworden
12^{06}		
Glas 2 ist weiß	ebenso	Glas 2 ist auch weiß
12^{09}		
Glas 1 ist weiß	ebenso	ohne Änderung
12^{14}		
— — —	— — —	Glas 1 ist auch weiß.

Versuchsgruppe 4.

Versuch 1.

Glas	Reihe 1 Milch	Reihe II Milch u. Stärke 1—10 Tropfen	Reihe III Milch u. St. 1—10 Tr. 2 Tr. CCl_4 purum	Reihe IV Milch u. St. 1—10 Tr. u. Alkoholätherlösung	Reihe V Milch u. St. 1—10 Tr. + Tetrachloräthan	Reihe VI Milch u. St. 1—10 Tr. + CCl_4	Reihe VII Milch u. St. 1—10 Tr. + CCl_4 purum	Reihe VIII Milch u. St. 1—10 Tr. + C_2CCl_6
I	0	0	0	0	0	0	0	0
II	0	0	1	1	1	1	1	1
III	0	0?	2—3	2—3	2—3	2—3	2—3	2—3
IV	0	0—1	3	3	3	3	3	3
V	0	1	4	4	4	4	4	4
VI	0	3	5	5	5	5	5	5
VII	0	4	5	5	5	5	5	5
VIII	0	5	5	5	5	5	5	5
IX	0	5	5	5	5	5	5	5
X	0	5	5	5	5	5	5	5

Versuch 2.

Leukozythen 1 — 10 Tropfen
Stärke 0,1 ccm
3 | 1 | 0—1 | 0? | 0? | 0 | 0 | 0 | 0 | 0

— — —

Leukozythen 1 — 10 Tropfen
Stärke 0,1 ccm
CCl_4 3 Tropfen
1 0—1 0 0 0 0 0 0 0 0

Versuch 3.

Leukozythen 3 Tropfen
Stärke 1—10 „
0 | 0? | 0? | 0—1 | 1 | 3 | 4 | 5 | 5 | 5

— — —

Leukozythen 3 Tropfen
Stärke 1—10 „
CCl_4 3 „
0 | 0 | 0? | 0? | 0—1 | 1 | 0—1 | 1 | 2—3 | 3

Versuchsgruppe 5.

Versuch. 1.

Komplementbindungsversuch: Einfluß von CCl_4 auf die Komplementbindung (Rotzsystem).

Serumreihe mit CCl_4

I. Sofortige Ablesung.

Normalserum vom Pferd	0,2—E —	0,2 —	0,1 —	0,05 —	0,02 —	0,01 —
Rotzserum	—	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++

II. Ablesung nach 20 Stunden.

Normalserum	—	+++++	+++++	+++++	+++++	++++
Rotzserum	—	+++++	+++++	+++++	++++	++++

Serumreihe ohne CCl_4

I. Sofortige Ablesung

Normalserum vom Pferd	0,2—E —	0,2 —	0,1 —	0,05 —	0,02 —	0,01 —
Rotzserum	—	+++++	+++++	+++++	+++++	+++

II. Ablesung nach 20 Stunden.

Normalserum	—	—	—	—	—	—
Rotzserum	—	+++++	+++++	+++++	++++	++

Kontrollen: Hämglytisches System = —
Komplement Kontrolle = +++++
Ambozeptor " = +++++
Blut " = +++++

Versuch 2.

Komplementbindungsversuch: Einfluß von verschiedenen Chlorkohlenstoffen auf die Komplementbindung (Rotzsystem).

1. Rotzserum.

Sofortige Ablesung	0,2—E	0,2	0,1	0,05	0,02	0,01
ohne Beigabe	—	+++++	+++++	+++++	++	—
mit 1 Tropfen Alkoholäthermischung	—	+++++	+++++	+++++	—	—
mit 1 Tropfen Aether in Alkoholäther gelöst	—	+++++	+++++	+++++	—	—
mit 1 Tropfen CCl_4 Lösung	—	+++++	+++++	+++++	—	—
mit 1 Tropfen C_2Cl_6 Lösung	—	+++++	+++++	+++++	?	—
mit CCl_4 purum	—	[illegible]	[illegible]	+++++	++	—
Ablesung nach 20 Stunden:						
ohne Beigabe	—	+++++	+++++	+++++	++	—
mit 1 Tropfen Alkoholäthermischung	—	+++++	+++++	+++++	—	—
mit 1 Tropfen C_2H_2 CCl_4 Lösung	—	+++++	+++++	+++++	—	
mit 1 Tropfen CCl_4 Lösung	—	+++++	+++++	+++++	—	[illegible]
mit 1 Tropfen C_2Cl_6 Lösung	—	+++++	[illegible]	[illegible]		
mit 1 Tropfen CCl_4 purum	—	+++++	+++++	+++++	[illegible]	—

II. Normalserum.

Sofortige Ablesung	0,2—E	0,2	0,1	0,05	0,02	0,01
ohne Beigabe	—	+++++	+++++	+++++	—	—
mit 1 Tropfen Alkoholäthermischung	—	+++++	+++++	+++++	—	—
mit 1 Tropfen Aether in Alkoholäther gelöst	—	+++++	+++++	+++++	—	—
mit 1 Tropfen CCl_4 Lösung	—	+++++	+++++	+++++	—	—
mit 1 Tropfen C_2Cl_6 Lösuug	—	+++++	+++++	+++++	?	—
mit CCl_4 purum	—	+++++	+++++	+++++	+++	—
Ablesung nach 20 Stunden:						
ohne Beigabe	—	+++++	+++++	+++++	++	—
mit 1 Tropfen Alkoholäthermischung	—	+++++	+++++	+++++	—	—
mit 1 Tr. $C_2H_2CCl_4$ Lösg.	—	+++++	+++++	+++++	—	—
mit 1 Tropfen CCl_4 Lösung	—	+++++	+++++	+++++	—	—
mit 1 Tropfen C_2Cl_6 Lösung	—	+++++	+++++	+++++	+	—
mit 1 Tropfen CCl_4 purum	—	+++++	+++++	+++++	+++	—

Kontrollen: Hämolytisches System = —
Komplement Kontrolle = +++++
Ambozeptor „ = +++++
Blut „ = +++++

Versuch 3.

Hämolyseversuch mit verschieden vorbehandeltem Komplement.

Ablesung sofort nach Ablauf der Reaktionszeit:

	Komplementmengen						Verd. 1 : 10		
	0,3	0,25	0,2	0,15	0,1	0,05	K	A	Na Cl
Kompl. ohne Zusatz	—	—	—	—	—	+++++	+++++	+++++	+++++
Kompl. mit 1 Tr. CCl_4 sofort pipettiert	—	—	—	—	—	++++	+++++	+++++	+++++
Kompl. ohne CCl_4 1 Std. bei Zimmertemperatur	—	—	—	—	—	+++++	+++++	+++++	+++++
0,6 Kompl. mit 20 Tr. CCl_4 1 Std. b. Zimmertp.	—	—	—	—	—	+++++	+++++	+++++	+++++

Ablesung nach ca. 20 Stunden:

	0,3	0,25	0,2	0,15	0,1	0,05	K	A	Na Cl
Kompl. ohne Zusatz	—	—	—	—	—	++	+++++	+++++	+++++
Kompl. mit 1 Tr. CCl_4 sofort pipettiert	—	—	—	—	—	+++	+++++	+++++	+++++
Kompl. ohne CCl_4 1 Std. bei Zimmertemperatur	—	—	—	—	—	++	+++++	+++++	+++++
0,6 Kompl. mit 20 Tr. CCl_4 1 Std. b. Zimmertp.	—	—	—	—	—	+++	+++++	+++++	+++++

Versuch 4.

Hämolyseversuch bei Zusatz von verschiedenen Chlorkohlenstoffen.

Sofortige Ablesung	0,3	0,25	0,2	0,15	0,1	0,05	K0,5	A1,0	Na Cl
ohne Zusatz	—	—	—	—	+	++++	+++++	+++++	+++++
mit 1 Tr. Alkoholäthermischung	—	—	—	—	+	+++++	+++++	+++++	+++++
mit 1 Tr. Äther	—	—	—	—	++	+++++	+++++	+++++	+++++
mit 1 Tr. CCl_4	—	—	—	—	+	+++++	+++++	+++++	+++++
mit 1 Tr. C_2Cl_6	—	—	—	—	—	+++++	+++++	+++++	+++++
mit 1 Tr. CCl_4 purum	—	—	—	—	—	+++	+++++	+++++	+++++

Ablesung nach 20 Stunden:

ohne Zusatz	—	—	—	—	—	++++	+++++	+++++	+++++
mit 1 Tr. Alkoholäther-Mischung	—	—	—	—	—	++++	+++++	+++++	+++++
mit 1 Tr. $C_2H_2Cl_4$	—	—	—	—	+	++++	+++++	+++++	+++++
mit 1 Tr. CCl_4	—	—	—	—	—	++++	+++++	+++++	+++++
mit 1 Tr. C_2Cl_6	—	—	—	—	—	++++	+++++	+++++	+++++
mit 1 Tr. CCl_4 purum	—	—	—	—	—	++	+++++	+++++	+++++

Versuch 5.

Hämolyseversuch mit CCl_4.

Komplementmengen Verd. 1 : 10

Sofortige Ablesung	0,3	0,25	0,2	0,15	0,1	0,05	K0,5	A1,0	Na Cl
Kompl. ohne Zusatz	—	—	—	—	—	+++++	+++++	+++++	+++++
Kompl. mit CCl_4	—	—	—	—	—	++++	+++++	+++++	+++++

Ablesung nach 20 Stunden:

Kompl. ohne Zusatz	—	—	—	—	—	+++	+++++	+++++	+++++
Kompl. mit CCl_4	—	—	—	—	—	+	+++++	+++++	+++++

Versuch 6.

Hämolyse-Versuch: Ambozeptor mit verschiedenen Chlorkohlenstoffen vorbehandelt.

15 stündige Einwirkung der Zusätze.

Sofortige Ablesung	0,3	0,25	0,2	0,15	0,1	0,05	KO,5	Al,0	Na Cl
Ambozeptor ohne Zusatz	—	—	—	—	? —	++++	+++++	+++++	+++++
Alkoholäthermischung	—	—	—	—	—	+++++	+++++	+++++	+++++
$C_2H_2Cl_4$	—	—	—	—	—	+++	+	+++++	++++
CCl_4 in Alkoholäther	—	—	—	—	—	+++	+++++	+++++	++++
C_2Cl_6	—	—	—	—	—	+++++	++++	++++	++++
CCl_4 purum	—	—	—	—	—	+++	+++++	+++++	+++++

Ablesung nach 20 Stunden:

ohne Zusatz	—	—	—	—	—	+++	+++++	+++++	+++++
Alkoholäther	—	—	—	—	—	+++	+++++	+++++	+++++
$C_2H_2Cl_4$	—	—	—	—	—	++	+++++	+++++	+++++
CCl_4 in Alkoholäther	—	—	—	—	—	+	+++++	+++++	+++++
C_2Cl_6	—	—	—	—	—	++	+++++	+++++	+++++
CCl_4 purum	—	—	—	—	—	++	+++++	+++++	+++++